

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 48

FACULTÉ DE MÉDECINE

Travail du Centre de Recherches sur la Fièvre Ondulante
MONTPELLIER

La vaccination effective du Cobaye
contre l'infection Brucellique

(*Brucella Melitensis*)

PREMIERS RÉSULTATS

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 28 Mai 1938

PAR

Georges ROMAN

Né le 13 septembre 1894, à Marseille

Ancien Moniteur de Cliniques à la Faculté

Chef de Laboratoire au Centre de Recherches sur la Fièvre Ondulante

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

JURY

MM. LISBONNE, Professeur, Président.

GIRAUD, Professeur.

LAPEYRE, Professeur.

JANBON, Professeur Agrégé.

Membres

IMPRIMERIE E. MAZEL

: L'ARGENTIÈRE (ARDECHE) :

1938

**La vaccination effective du Cobaye
contre l'infection Brucellique**

(Brucella Melitensis)

PREMIERS RÉSULTATS

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 48

FACULTÉ DE MÉDECINE

Travail du Centre de Recherches sur la Fièvre Ondulante
MONTPELLIER

**La vaccination effective du Cobaye
contre l'infection Brucellique**
(Brucella Melitensis)

PREMIERS RÉSULTATS

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 28 Mai 1938

PAR

Georges ROMAN

Né le 13 septembre 1894, à Marseille

Ancien Moniteur de Cliniques à la Faculté

Chef de Laboratoire au Centre de Recherches sur la Fièvre Ondulante

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

JURY

MM. LISBONNE, Professeur, Président.

GIRAUD, Professeur.

LAPEYRE, Professeur.

JANBON, Professeur Agrégé.

Membres

IMPRIMERIE E. MAZEL

: LARGENTIÈRE (ARDÈCHE) :

1938

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Anatomie.....	MM. J. DELMAS
Histologie.....	TURCHINI
Physiologie.....	L. HEDON
Chimie biologique et médicale et toxicologie.....	CRISTOL
Physique médicale.....	PECH
Anatomie pathologique.....	GRYNFELTT
Microbiologie.....	LISBONNE
Pathologie et thérapeutique générales.....	PAGES
Thérapeutique et matière médicale.....	BOUDET
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	PUECH
Hygiène.....	CARRIEU
Médecine légale et médecine sociale.....	VIDAL
Pathologie médicale et clinique propédeutique.....	BOULET
Clinique médicale.....	GIRAUD, RIMBAUD
Clinique chirurgicale.....	MASSABUAU, ^{assesseur}
Clinique obstétricale.....	RICHE
Clinique des maladies mentales et nerveuses.....	P. DELMAS
Clin. des mal. des enfants et hyg. du premier âge...	EUZIERE, doyen
Clinique de dermatosyphiligraphie.....	LEENHARDT
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	MARGAROT
Clinique des maladies des voies urinaires.....	ETIENNE
Clinique gynécologique.....	JEANBRAU
Clinique ophtalmologique.....	LAPEYRE
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	N...
Radiologie (Ch. de c.).....	TERRACOL
Anatomie (Ch. de c.).....	LAMARQUE
Histologie (Ch. de c.).....	LAUX
	GRANEL

Honorariat

Professeurs honoraires :

MM. RODET, TEDENAT, VALLOIS, FORGUE.

ESTOR, BERTIN-SANS, CABANNES, GALAVIELLE, VIRES, BOSC, VILLARD

Chargés de Cours Complémentaires

Histoire Naturelle médicale.....	MM. HARANT Dr
Pathologie Médicale et Clinique propédeutique médi- cale.....	BAUMEL, agr.
Clinique propédeutique médicale.....	P. RIMBAUD, agr.
Clinique des maladies contagieuses.....	JANBON, agr.
Clinique phthisiologique.....	BOUDET, prof.
Pathologie expérimentale.....	GUIBAL, agr.
Pathologie externe.....	MOURGUE-MOLINES, agr.
Médecine opératoire.....	SOUBEIRAN, ag. libre.
Accouchements.....	COLL DE CARRERA, ag. libre
Ophtalmologie.....	DEJEAN agr.
Stomatologie.....	Dr WATON

Agrégés en exercice

Bactériologie.....	MM. CARRERE
Médecine.....	JANBON
	BAUMEL,
	P. RIMBAUD
	LAFON, ch. d'agr.
	BOUCOMONT, ch. d'a.
	MONNIER, ch. d'agr.
Chimie.....	MM. AIMES
Chirurgie.....	MOURGUE-MOLINES
	GUIBAL
	ROUX
	DEJEAN
Ophtalmologie.....	

Examineurs de la Thèse

MM. LISBONNE, prof. président.	MM. LAPEYRE, professeur.
GIRAUD, professeur.	JANBON, professeur agrégé.

La Faculté de médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A LA MÉMOIRE DE MES FRÈRES

A MA FEMME

A MON ONCLE LE DOCTEUR TEULON-VALIO

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. LISBONNE

Professeur de Microbiologie

Chef de Service à l'Institut Pasteur (1932-1935)

Chevalier de la Légion d'Honneur

En témoignage de vive reconnaissance.

A MON JURY DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GASTON GIRAUD

MONSIEUR LE PROFESSEUR NOEL LAPEYRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. JANBON

AVANT PROPOS

Au moment de terminer mes études médicales si souvent et si longtemps interrompues, il m'est agréable d'exprimer à tous mes Maîtres de la Faculté l'expression de ma profonde reconnaissance.

En 1919, après quatre années de séjour aux armées, j'étais affecté au Service de notre Maître regretté Monsieur le Professeur G. RAUZIER ; je devais pendant un an remplir les fonctions d'Externe bénévole ; j'ai puisé auprès de celui qui était pour moi plus un Ami qu'un Maître, les éléments les plus solides de la Clinique.

En 1923, nommé moniteur des Cliniques dans le Service de Monsieur le Professeur V. VEDEL, je devais pendant cinq ans, bénéficier de ses leçons et des bienfaits de son amitié profonde. Ce n'est pas sans émotion que je rappelle la sollicitude délicate dont il a entouré les derniers moments de mes parents les plus chers.

Puis, les vicissitudes de l'existence m'ont, pendant plusieurs années détourné des études médicales, lorsqu'en 1930, Monsieur le Professeur Marcel LISBONNE me fit le grand honneur de me recevoir au Laboratoire de la Fièvre Ondulante. Depuis ce moment, il n'a cessé d'être pour moi un guide qui m'a inculqué le goût de la recherche, et qui, par son action persuasive de tous les instants, m'a amené à terminer des études si longtemps interrompues.

Infiniment touché par son inépuisable bonté, c'est à lui que va spécialement ma gratitude.

Monsieur le Professeur GIRAUD, qui, pendant de nombreuses années, m'a dans les Services de nos Maîtres

regrettés inculqué le souci de la méthode dans les recherches, et m'a fait entrevoir si souvent les liens étroits qui doivent unir le laboratoire à la clinique. Je lui en exprime ma vive gratitude.

Que Monsieur le Professeur Noël LAPEYRE trouve ici l'expression de ma reconnaissance pour les preuves sans cesse renouvelées qu'il m'a données d'une vieille amitié, toujours si vivante.

Je dois une pensée particulièrement reconnaissante à mon ami le Professeur Agrégé JANBON, dont le dévouement pour moi et les miens est si fréquemment mis à l'épreuve.

A tous mes Maîtres de la Faculté de Médecine et des Hôpitaux, j'adresse mes vifs remerciements et ma respectueuse gratitude.

Enfin, je dois une grande part de reconnaissance, à tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail : à Monsieur Gérard RENOUX, collaborateur de tous les instants qui m'a apporté dans ces travaux, une aide si précieuse ; à tous les employés de notre laboratoire, qui ont tous payé un si lourd tribut à la fièvre ondulante, j'adresse ici, un souvenir plein de gratitude.

INTRODUCTION

En collaboration avec le Professeur Marcel LISBONNE, et Gérard RENOUX, nous avons récemment fait à l'Académie des Sciences la Communication suivante, présentée par Monsieur LECLAINCHE.

On n'a pas encore réussi à vacciner un animal, et plus particulièrement le cobaye, contre l'infection brucelique à *Br. melitensis*. Les vaccins morts n'immunisent pas. Quant aux vaccins vivants, ou ils sont constitués par des souches avirulentes pour le cobaye et ils se comportent alors comme des vaccins tués, ou ils sont doués de quelque virulence pour cet animal ; dans ce cas, ils infectent définitivement l'organisme et l'on ne peut plus parler de vaccination ultérieure.

Après plusieurs années de recherches, nous pensons avoir réalisé l'immunisation vraie du cobaye au moyen d'un vaccin qui associe une souche microbienne tout à fait particulière, strictement avirulente non seulement pour le cobaye, mais aussi pour l'homme, (*Br. abortus bovis* 112) et les substances glucido-lipidiques extraites de *Br. melitensis*, suivant la technique si féconde de BOIVIN. La coopération de ces deux constituants nous a paru indispensable.

Nous avons constaté que l'antigène mélitensique glucido-lipidique se comportait comme un antigène complet, non seulement capable de susciter la formation d'anticorps, mais encore de créer l'état² allergique du

cobaye (contrairement aux microbes tués qui ne sont pas allergènes). Injecté dans le derme de l'animal, il augmentait considérablement sa résistance à l'infection expérimentale, parfois cette résistance allait jusqu'à l'immunité effective ; cependant, dans la plupart des cas, elle était encore insuffisante.

Nous avons été progressivement amenés à rechercher si l'adjonction à cet antigène chimique d'une souche vivante avirulente ne compléterait par ses vertus vaccinales : les résultats de nos premiers essais ont dépassé nos espérances. Aussi nous nous décidons à les faire connaître, après avoir vérifié que des recherches complémentaires en cours ne faisaient qu'en confirmer la valeur.

Dix cobayes ont été préparés, en Août et Septembre 1937, par une série de trois injections intradermiques d'un vaccin constitué par 0,2-0,5 cc. d'antigène BOIVIN extrait de la souche *Br. melitensis* H-105 (la plus virulente de notre collection) et 0,2 0,5 cc. d'une suspension épaisse de *Br. abortus bovis* 112 vivant. Cette souche, dénuée de tout pouvoir pathogène, est néanmoins du type S : caractère qui paraît conditionner son activité.

Le 1^{er} Octobre, les dix cobayes vaccinés et dix cobayes témoins sont inoculés, suivant la technique en usage dans notre laboratoire depuis longtemps : application sur la peau rasée et scarifiée en stries serrées d'une grosse anse chargée d'une suspension de *Br. melitensis* de 48 heures (deux millions de germes environ ; près de cent fois la dose minima infectante.)

A partir de cette date, les animaux sont soumis chaque mois à une hémoculture, une séro-agglutination et une intra-dermo réaction pratiquée avec notre antigène protéique.

Chez les témoins, l'hémoculture ne cesse pas d'être positive pendant les 4 à 5 mois suivants ; le taux d'agglutination s'élève et se maintient en général au titre de

1/640 — 1/1280 et plus ; l'intradermo-réaction est fortement positive ; la réaction allergique est telle, qu'elle entraîne parfois la mort de l'animal.

Au contraire, chez les cobayes vaccinés, l'hémoculture a toujours été négative; le taux d'agglutination qui s'était élevé immédiatement après l'infection jusqu'au 1/640 environ, redescend rapidement au titre de 1/10-1/20 (ce que nous n'avions jamais vu se produire sur des centaines de cobayes infectés.) La réaction allergique diminue elle aussi d'intensité pour se négativer même dans quelques cas.

Les animaux ont été sacrifiés 5 mois et demi après l'inoculation d'épreuve et leur autopsie poursuivie avec un soin méticuleux. Chez tous les animaux témoins survivants, on note la présence de lésions caractéristiques de l'infection brucellique (abcès du foie, de la rate, des articulations chondro-sternales, des ganglions lombaires, du testicule) toutes lésions dont on isole facilement *Br. melitensis*. Chez les cobayes vaccinés, il a été impossible de déceler l'existence d'une lésion, si minime soit-elle. Les ensemencements des organes sont tous restés stériles.

La proportion des animaux vaccinés a été de 8 sur 10 dans les premiers essais.

Devant de telles constatations, nous sommes en droit de prétendre que nos animaux ont été réellement vaccinés, et qu'ils ont, de ce fait, résisté à une inoculation assez sévère pour n'épargner aucun témoin.

Nous ne tarderons pas à publier avec plus de détail, les résultats de nos recherches en cours, accompagnés des protocoles d'expériences justificatifs.

*
* *

Notre Thèse inaugurale est consacrée à l'exposé détaillé de ces expériences de vaccination dont le dernier paragraphe de notre note annonçait la publication prochaine.

Depuis le jour où EYRE (2), de la commission Anglaise, a montré la réceptivité du cobaye à l'égard de l'infection mélitensique, de nombreuses recherches ont été entreprises pour tenter de vacciner cet animal contre le *Brucella mélitensis*. Tous les essais se sont terminés par des échecs. Aussi, le cobaye passe-t-il pour invaccinable, partageant cette particularité avec d'autres espèces animales (bovine, ovine, caprine).

Depuis de nombreuses années, au C. R. F. O, nous avons tous cherché à réaliser cette vaccination du cobaye, persuadés que les essais d'immunisation dans la pratique rurale doivent être précédés de patientes et nombreuses expériences sur les animaux de laboratoire, et que toute tentative qui n'est pas passée par la phase expérimentale ne peut donner que des déboires et des incertitudes.

Comme nos devanciers, nous n'avons obtenu que des résultats négatifs tant avec les vaccins tués qu'avec les vaccins vivants. Il est inutile de relater nos essais qui se chiffrent par centaines; ils ne font que confirmer les résultats publiés, que nous allons résumer brièvement pour en montrer la décevante concordance.

Mais ces essais, loin de nous décourager, nous imposèrent de multiplier les combinaisons vaccinales, et des circonstances heureuses nous amenèrent à étudier les vaccins «chimiques» constitués par des antigènes extraits de microbes par la méthode de BORVIN; on verra comment le développement de ces nouvelles tentatives nous a mis sur la voie d'une vaccination qui nous a permis de réaliser pour la première fois la vaccination du cobaye.

PREMIÈRE PARTIE

Sommaire : CHAPITRE I — Les essais antérieurs de vaccination du cobaye.

CHAPITRE II — Expérience initiale de vaccination par vaccin mixte.

CHAPITRE I

Essais antérieurs de vaccination du Cobaye contre l'infection à *Brucella Mélite*nsis

— Les tentatives de vaccination ont été faites soit avec des vaccins tués soit avec des immunsérums ou des vaccins vivants.

Vaccination par vaccins tués

ASCOLI (3) et STAFSETH (4) observent l'inefficacité totale de vaccins constitués par des *brucella* tués par la chaleur.

GWATKINS (5) utilisant des cultures tuées par la chaleur, le formol ou le phénol, mélangées à l'abortine, tente de vacciner par 15 injections (sous-cutanées) successives. S'il obtient dans une première série un résultat assez intéressant, 7 cobayes infectés sur 13 vaccinés, contre 2 sur 3 témoins, il est beaucoup moins heureux dans une seconde expérience où 11 animaux sur 11 vaccinés sont infectés.

HAGAN (6) utilise comme vaccin un abortus tué par la chaleur, 1 heure à 60°, qu'il injecte à 6 reprises toutes les semaines.

A l'autopsie, il constate que les organes sont infectés,

et qu'on peut notamment isoler le germe de la rate de tous les animaux traités.

Il conclue que, bien qu'apparemment les progrès de la maladie aient été moins rapides chez les cobayes traités que chez les cobayes non vaccinés, on ne peut immuniser les cobayes par les vaccins tués.

Divers auteurs rapportent des résultats infructueux et de nombreuses tentatives de vaccination, tant avec les vaccins qu'avec les sérums: ZDRODOWSKI (7) entr'autres conclue de ses multiples recherches que « malgré des combinaisons diverses nous ne réussissons jamais à produire l'immunité chez nos animaux contre nos souches virulentes de *brucella melitensis* ». BURNET (8) fait des constatations de même nature.

Comme nous l'avons dit, nous mêmes avons repris plusieurs fois ces différentes expériences qui toujours ont abouti à un échec. Bien plus il nous est apparu souvent que l'usage massif et répété des vaccins tués, fragilisait l'animal, le sensibilisait à l'infection et permettait la constatation de taux d'agglutination et de lésions viscérales plus importantes que chez les animaux non vaccinés.

Vaccination par immunsérums

GWATKINS (9) en 1932 a essayé de protéger le cobaye contre l'infection au moyen de sérum de vaches convalescentes d'une infection naturelle ou « d'hyperimmunsérum » obtenu par l'inoculation, à des animaux, artificiellement infectés, des doses massives de germes tués.

Il injecte, par voie intrapéritonéale, des doses croissantes de sérum : 1 cc., 5 cc., 10 cc. Au lendemain de la dernière injection les animaux sont infectés soit par voie péritonéale, soit conjonctivale. Il constate que seul le sérum frais a une certaine valeur ; vieilli de 1 mois, il a perdu toutes ses qualités. Il constate chez les animaux traités, un retard dans l'infection, mais la protection est

bien faible (Slight) car une seule femelle a donné naissance à un produit vivant, tandis que toutes les autres avortaient. Nos essais dans cette voie ont été aussi négatifs.

Vaccination par vaccins vivants

Devant l'inefficacité de ces méthodes de protection, on a eu alors recours à l'emploi des souches vivantes de *Brucella abortus*. Mais ici se pose un véritable dilemme : « ou on utilise des souches avirulentes pour le cobaye et les vaccins se comportent comme des vaccins tués, ou ils sont doués de quelque virulence pour cet animal ; dans ce cas, ils infectent définitivement l'organisme et on ne peut plus parler de vaccination ultérieure. »

Cependant, des nombreuses tentatives effectuées dans cette voie, celle de Mc EWEN et ROBERTS (10) mérite de retenir particulièrement l'attention ; ces auteurs utilisent une souche d'origine bovine isolée en 1922 (B-45) qui est un abortus typique, entièrement « S » se développant aussi bien à l'air libre qu'en CO_2 . Cette souche est si peu virulente que 800 millions de germes voire même le double, ne produisent chez le cobaye aucune manifestation microscopique de l'infection. Cependant, on peut chez quelques animaux obtenir de la rate ensemencée sur gélose, quelques colonies, 33 jours après l'inoculation. Le passage de la souche d'un animal à l'autre a été impossible par l'inoculation des mêmes tissus spléniques. Six passages de la souche d'animal à animal n'exaltent par la virulence.

Cette souche a paru vacciner le cobaye contre une souche virulente de *Brucella abortus*. Les cobayes mâles reçoivent trois injections sous-cutanées de 1.500 millions de germes de la souche 45 et sont infectés 59 jours après, par l'instillation dans l'œil d'une goutte de suspension (2 millions de germes par cc.) d'une souche virulente de Br.

d'origine bovine. L'auteur rapporte plusieurs séries d'essais qui ont donné des résultats assez contradictoires, certaines pouvant être considérées comme des plus heureuses (90 % d'animaux protégés), d'autres comme malheureuses (73 % d'animaux infectés).

Bref, de l'étude soigneuse de leurs travaux, on a l'impression que l'immunité va s'affaiblissant à partir de la 15^e semaine et qu'elle disparaît complètement à partir de la 19^e semaine ; que les femelles vaccinées par la souche vivante, bien que présentant des lésions manifestes de la rate, possèdent un haut degré de résistance à l'avortement, très supérieur à celui de l'animal de contrôle.

Les expériences que nous avons nous-mêmes tentées au C. R. F. O. en vue d'immuniser les cobayes par des souches vivantes du type R, totalement avirulente pour le cobaye, ne créant aucun anticorps ni réaction allergique, nous ont permis de constater que dans un certain nombre de cas, l'infection par une souche virulente du type mélitensis chez l'animal vacciné a une évolution plus lente, les taux d'agglutination sont moins élevés que chez les témoins, mais malgré tout, *chez tous les vaccinés, on retrouve dans la rate le bacille infectant*. Par conséquent, on ne saurait plus parler d'immunité.

CHAPITRE II.

Expérience initiale de vaccination par vaccin mixte

En 1936, Monsieur le Professeur LISBONNE (11) préparait à partir d'une souche des plus virulentes de notre collection, Br. Mélitensis 105 un antigène glucido lipidique, d'après la méthode de BOIVIN, (12) antigène constitué, comme on le sait, par des acides gras et un polysaccharide. La technique d'extraction suivie rigoureusement, est celle de BOIVIN « culture de la souche H 105 (*brucella mélitensis*) du type S ; lavages répétés des corps microbiens à l'eau physiologique ; traitement de la purée microbienne par une solution d'acide trichloracétique N/2 ; centrifugation et séparation du liquide acide qui présente une teinte jaune et une opalescence très accusée. Dialyse aseptique contre de l'eau distillée. Filtration sur bougie L2. »

Amenés à expérimenter cette solution sur les cobayes, nous avons constaté une série de faits qui nous ont paru du plus grand intérêt.

En effet, l'inoculation *intra dermique* à dose minime : 4 injections de 0,1 — 0,2 — 0,5 cc. répétées à huit jours d'intervalle (en tout 1 cc.) non seulement amène chez le cobaye l'apparition d'anticorps agglutinants, mais crée un état allergique important. Sans doute, les anticorps et les phénomènes allergiques, ne

sont que transitoires, et après la 5^e semaine les uns et les autres sont en voie de disparition (on remarque sur le graphique N° 3 le parallélisme de la naissance et de la chute des deux phénomènes.)

D'autre part, l'injection de doses minimales, 0,5 cc. de ce même antigène pratiquée à des animaux ayant reçu des produits biologiques (laits, pus, crachats, liquides céphalo rachidiens) provenant de brucellose démontrée mais restés strictement négatifs (sérologiquement et bactériologiquement), avait pour effet d'élever rapidement et considérablement le taux d'agglutination de leur sérum sanguin, et de renforcer les réactions allergiques sans qu'il soit possible d'isoler un germe par hémoculture.

Au contraire, chez d'autres animaux ayant reçu les mêmes produits biologiques, mais provenant de sujets non infectés, on ne constate ni augmentation du taux d'agglutination, ni réactions allergiques.

Enfin, l'antigène G. L. « injecté dans le derme de l'animal, augmentait considérablement sa résistance à l'infection expérimentale ; parfois cette résistance allait jusqu'à l'immunité effective, cependant dans la plupart des cas, elle était encore insuffisante ».

Devant le pouvoir antigénique aussi marqué de cet extrait, nous avons pensé à l'associer à des souches avirulentes que nous possédons au laboratoire, souches dépourvues, totalement pour certaines, partiellement pour d'autres, de propriété antigénique.

Nous disposions à ce moment de cobayes d'expériences inoculés depuis déjà 6 mois (graphique 1) avec une véritable purée microbienne (60 milliards de germes) d'une souche avirulente du type abortus Bovis : B-112. Leur sang qui avait présenté un léger taux d'agglutination, était à cette époque redevenu négatif. La réaction allergique positive un moment, s'était négativée à son tour. A l'un de ces cobra-

yes nous avons injecté 1 cc. d'Antigène BOIVIN (0,5 cc. par voie intra-dermique, 0,5 cc. sous cutanée.)

Dès la seconde semaine nous avons assisté à une montée « vertigineuse » du taux d'agglutination, passé de 0 à 1/1280, et parallèlement, nous avons vu la réaction allergique redevenir positive. Trois mois après la descente du taux d'agglutination et de l'I.D. était à nouveau totale.

Nous avons alors infecté cet animal avec 1 million de germes de la souche virulente *Brucella Melitensis* H-105.

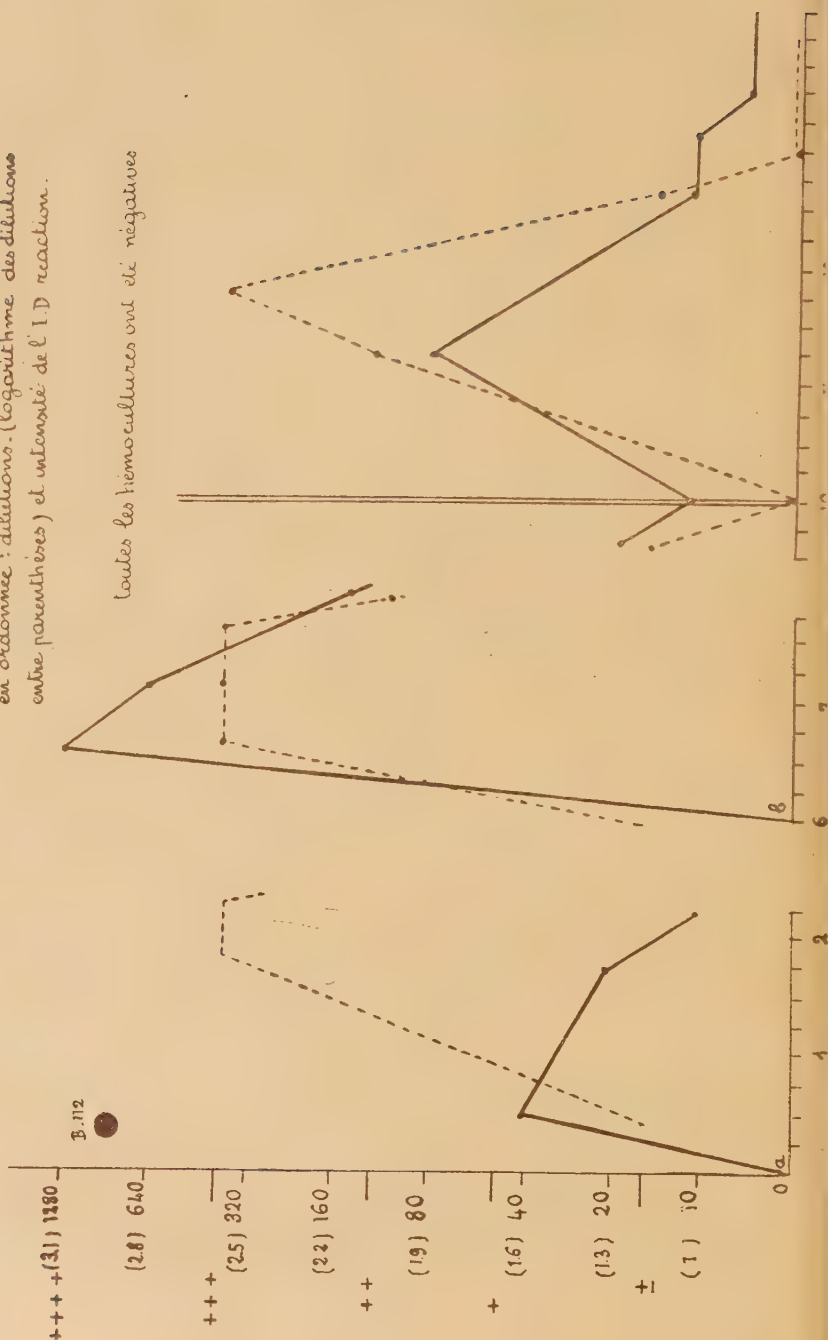
A cet effet, sur la peau préalablement rasée et scarifiée nous déposons une anse chargée de suspension d'une culture de 48 heures. Nous avons prélevé tous les mois, par ponction cardiaque, du sang, pour pratiquer l'hémoculture et la séro-agglutination.

L'animal était soumis en même temps à une injection intra-dermique de protéine pour vérifier son état allergique. A l'issue du premier mois, le taux d'agglutination s'était relevé au titre de 1/80. L'intra-dermo était redevenue à son tour nettement positive ; mais 6 semaines après, toutes ces réactions étaient redevenues négatives, et toutes les hémocultures restées stériles. *L'animal paraissait donc vacciné.* (Le graphique n° 1 rend compte de cette expérience)

Conservé jusqu'à ce jour, le cobaye a été réinfecté 5 mois après la première infection. Comme la première fois, toutes les hémocultures sont restées négatives. Bien plus, la séro-réaction et l'intra-dermo-réaction n'ont pas été sensiblement modifiées et sont à ce jour totalement négatives.

Deux autres cobayes traités de la même façon avec les mêmes souches ont donné des résultats identiques ; à l'autopsie pratiquée à deux moments différents, on n'a

Graphique N°1



GRAPHIQUE N° 1

Ce graphique concerne le cobaye qui nous a aiguillés dans la voie de ces recherches.
 Inoculé avec Br. abortus B-112, en suspension très épaisse, environ 60 milliards de germes) il a été 6 mois après, traité par l'Antigène G. L : 1 cc. sous cutané, 1 cc. intradermique ;
 Infecté au dixième mois par Br. Mélitensis H-105 après scarification de la peau.
 Ce cobaye, encore vivant, n'a plus présenté d'agglutination positive ni de réactions aller-

giques.

LÉGENDE

	séro agglutination
	intra dermo-réaction
	hémoculture positive
a	injection de Br. Bovis B-112
b	injection d'Antigène G. L

Le double trait vertical indique l'infection.

décelé chez eux aucune lésion d'organes. L'ensemencement de ceux-ci est négatif (*).

Les constatations faites sur le cobaye dont nous avons relaté plus haut l'histoire, nous ont fait penser que l'antigène glucido lipidique associé à une souche avirulente non vaccinante par elle même, pourrait conférer à cette dernière une propriété dont elle était démunie.

Devant des résultats préliminaires aussi concluants nous avons été amenés à élargir le champ de cette expérience, afin de vérifier des résultats aussi heureux et de les répéter en série.

*) Par contre, 6 cobayes dont 3 traités par une souche naturellement avirulente, et 3 autres avec une souche rendue artificiellement avirulente par passages successifs en milieu iodoformé (LXXIII passages), appartenant toutes deux au type R, on n'a pu malgré l'association de microbes vivants à l'Antigène G. L. déclencher le moindre état immunitaire, le taux de l'agglutination n'a pas été modifié, et ils n'ont pu résister à l'infection. Toutes les hémocultures pratiquées pendant les 2 premiers mois, succédant à l'infection ont été positives. A l'autopsie, nous avons constaté de nombreuses lésions viscérales, et isolé le germe de la rate de ces animaux.

DEUXIÈME PARTIE

Sommaire : CHAPITRE I — L'infection brucellique chez le Cobaye.

CHAPITRE II — Recherches personnelles.

a) Technique.

b) Le vaccin.

c) Organisation d'expérience.

CHAPITRE III — Les résultats.

a) Evolution de l'infection chez les cobayes témoins infectés par *Brucella Melitensis*.

b) Essai de vaccination par l'antigène glucido-lipidique.

c) Essai de vaccination par la souche *Brucella Abortus B-112*.

d) Essai de vaccination par le vaccin mixte.

CHAPITRE I

L'Infection brucellique chez le cobaye

Avant d'en arriver à l'exposé de nos expériences de vaccination, il est indispensable de rappeler les manifestations anatomiques, cliniques et humorales de l'infection brucellique du cobaye. De cette étude se dégageront les criteriums qui nous permettront d'apprécier correctement le degré d'immunité conférée aux animaux par notre méthode de vaccination.

On a pu croire au début des recherches sur la brucel-

lose des cobayes que l'infection de ces animaux était difficile à réaliser et qu'il fallait recourir pour y parvenir « à un procédé essentiellement artificiel autant que sévère : l'inoculation intra-cérébrale » employée en 1905 par H. DURHAM (13) et J. H. EYRE (2).

Depuis lors, il est au contraire apparu que le cobaye est extrêmement sensible à l'infection expérimentale ou naturelle par les brucella. Mais il ne faut pas s'attendre à voir évoluer chez cet animal une maladie aiguë, mortelle, comme celles que les bactériologistes ont l'habitude de créer, quand ils expérimentent avec *B. anthracis*, *B. paratyphique* etc... Le cobaye fait une infection chronique, qui ne porte nulle atteinte, en apparence, à son état général. L'animal se développe normalement, et peut vivre plusieurs années, quoique profondément infecté. Et l'on n'est pas peu étonné à l'autopsie de constater que la vie a été normalement possible malgré les lésions multiples et volumineuses qu'on observe sur divers organes.

La sensibilité à l'infection chronique brucellique a paru telle à certains auteurs que ceux-ci ont dénoncé le cobaye comme un animal impropre aux recherches d'immunisation contre cette infection (HUDDLESON). (14)

En effet, des doses minimes de germes suffisent à provoquer la maladie. — 100 germes, quelques fois moins. (HAGAN) (15) — mais il est indéniable que 10.000 germes infectent l'animal à coup sûr, voir même l'animal le plus résistant ; il nous apparaît d'ailleurs que la quantité de germes utilisés influe peu sur la gravité de l'infection. Sans doute des doses massives font apparaître plus rapidement que de petites doses, les manifestations sérologiques et pathologiques ; mais le résultat final reste le même.

Il semble bien que chez le cobaye (comme chez l'homme d'ailleurs) les différents types de *Brucella*, *Melitensis*, *Abortus Bovis* ou *Suis*, provoquent les mêmes symptô-

mes cliniques, les mêmes réactions sérologiques et allergiques, les mêmes lésions anatomiques, celles-ci d'une égale gravité. Seules, peut-être, les souches équines ne créent chez le cobaye qu'une maladie frustrée qui ne se manifeste que par une séro-réaction peu élevée, aussi bien que par une intra-dermo jamais étendue ; enfin, à l'autopsie, les lésions d'organes sont minimales.

Sans doute, existe-t-il des degrés de virulence variable des souches, puisque nous possédons dans nos laboratoires des germes du type « Smooth » avirulentes pour l'homme et l'animal, mais ce sont en général des souches isolées depuis longtemps, et qui peu à peu ont été transformées par leur habitat en milieu artificiel. Si d'autre part, nous trouvons quelques fois des différences nettes dans l'allure de la maladie provoquée chez le cobaye par une même souche, elles incombent, selon nous, plus à la résistance individuelle de l'animal qu'à la variation momentanée de la virulence du germe infectant.

Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques, chez le cobaye infecté artificiellement, sont pendant la période d'incubation et d'invasion de la maladie peu apparentes : « l'évolution est silencieuse, la symptomatologie nulle », l'animal ne présente pas d'élévation de température, d'anorexie, ne maigrit pas, en règle générale ; cependant, au palper, on constate dans la région où l'inoculation a été pratiquée, une augmentation de volume des ganglions (précuraux axillaires).

À partir de la 6^e semaine, apparaissent fréquemment des arthrites des pieds, quelques fois du genou et de l'épaule, affections qui rétrocedent assez régulièrement. C'est à partir du 2^e mois que peuvent se produire les manifestations suppurées de la maladie, abcès des car-

tilages costaux, des ganglions précuraux, iliaques ou axillaires ; abcès de l'épididyme, des testicules, suivies d'atrophie de l'organe ; avortement par abcès de la paroi utérine, très souvent suivi de stérilité définitive, chez la femelle.

Enfin, une des complications fréquentes à cette période, est la paraplégie, due la plupart du temps à une compression médullaire causée par la présence d'un abcès, d'un ou de plusieurs corps vertébraux. L'état de l'animal ne paraît d'ailleurs pas dans ce cas profondément altéré : l'animal se nourrit bien, et, souvent, guérit spontanément de ses lésions (sans séquelles apparentes).

A partir du 3^e mois la maladie devenue chronique ne paraît plus importuner l'animal qui engraisse et présente un aspect floride. Seule, la stérilité peut faire soupçonner l'infection. Nous avons observé de nombreuses cages d'animaux infectés, où aucune naissance n'était constatée, bien que mâles et femelles y aient vécu en promiscuité pendant de longs mois.

La mortalité est excessivement rare du fait de la maladie, sensiblement égale à celle enregistrée dans les élevages d'animaux sains.

Cependant, nous avons pu imputer quelques fois à l'infection plusieurs morts : par rupture de rate, épanchements pleuraux ou péricardiques, par perforation intestinale au niveau d'un abcès appendiculaire (1 cas), toutes lésions dans lesquelles le germe a été retrouvé.

Sérologie

Si les manifestations cliniques sont lentes, et silencieuses à se manifester, les réactions sérologiques sont en général plus précocement nettes (précocité en relation comme nous l'avons dit plus haut avec la dose infectante). Aucun pouvoir agglutinant n'est décelable dans le sérum

pendant les quinze jours suivant l'infection, mais à partir de la 3^e semaine les taux d'agglutination montent rapidement pour atteindre leur maximum entre la 6^e et la 7^e semaine ; puis, redescendant quelque peu, la courbe qui, reste en palier d'une manière définitive, et sauf quelques très rares exceptions, persiste toute la vie de l'animal.

Les résultats de l'agglutination chez le cobaye présentent une netteté et une correction remarquables, grâce à l'emploi depuis le début de nos expériences, d'un antigène standardisé, constitué par une suspension (d'une opacité correspondant à 276° du photomètre de VERNES) de la souche S6 abortus puis, tuée par la chaleur et stabilisée par 1 p. 1.000 de formol. Nous n'avons jamais constaté chez le cobaye d'agglutination paradoxale, de phénomènes de zone si fréquents chez les ovins, les caprins, et assez fréquents chez l'homme.

La valeur diagnostique de la séro-agglutination se mesure à cette constatation faite sur plusieurs centaines de cobayes sûrement infectés : plus de 90 p. 100 de ces cobayes donnent une séro agglutination positive à des taux compris entre 1/80 et 1/1280 ; 77 p. 100 d'entre eux, agglutinent au moins à 1/320 et plus.

Allergie

Parallèlement aux séro-réactions de WRIGHT nous avons toujours cherché des réactions allergiques pour étayer nos diagnostics d'infection du cobaye. D'après les recherches bien connues de BURNET (8) les cobayes infectés montrent une sensibilité marquée aux antigènes spécifiques.

Nous avons depuis longtemps systématiquement utilisé chez l'homme, les animaux de ferme et les cobayes, cette méthode de diagnostic ; notre expérience nous a amenés à abandonner successivement les suspensions

microbiennes, dont les injections répétées créent chez l'individu, des anticorps, et la mélitine de BURNET, excellent antigène chez l'homme, et qui, cependant, malgré toutes les précautions prises dans sa préparation donne parfois, des résultats inconstants.

Nous n'employons plus, depuis de nombreuses années, que les endo-protéines, extraites d'une souche de *mélitensis* très antigénique et virulente, antigène dont la substance protéique est facilement dosable en azote protéique et qui de ce fait est un produit constant.

Nous injectons par voie strictement intra-dermique dans la région abdominale préalablement rasée, 0.1 cc. de l'antigène protéique. On lit les résultats 24 heures après.

L'injection de cet antigène provoque chez l'animal infecté une réaction locale très nette, gros œdème blanc, avec une infiltration des tissus sous jacents ; souvent, la zone environnant le point d'inoculation, présente un large placard échyмотique qui, quelques fois se sphacèle.

Enfin, bon nombre de cobayes fortement infectés (voir tableau 1) succombent de choc quelques heures après l'injection ; à l'autopsie, on trouve la paroi abdominale excessivement infiltrée, le péritoine congestionné, et on constate dans la cavité abdominale, un abondant épanchement séreux.

Nous avons adopté comme notation de l'importance de la réaction les signes suivants : —, +, ++, + + + et + + + +. Une notation + + ou au-dessus est considérée par nous comme nettement positive.

De même que pour l'agglutination, nous pouvons, d'après nos multiples expériences, conclure que plus de 90 % des cobayes infectés manifestent un état allergique que décèle, avec la plus grande netteté, l'intra dermo réaction spécifique.

Manifestation bactériologique

Contrairement à l'opinion de quelques auteurs, nous pensons que l'hémoculture reste pour la recherche de l'infection, chez le cobaye, le moyen le plus fidèle (donnant dans la majorité des cas la certitude de diagnostic).

Facilement isolable dans le sang du cobaye à partir de la 3^e semaine suivant l'infection (graphique n° 9) le germe est régulièrement retrouvé, pendant les deux premiers mois ; dans la suite, les résultats deviennent moins constants, et les chances d'isolement deviennent de plus en plus rares, à partir du moment où la maladie prend une forme chronique.

La preuve de la fidélité de l'hémoculture est apportée par le fait que sur 650 souches isolées de cobayes inoculés (en vue de diagnostic) 96 p. 100 ont été obtenues par ce procédé. Pour 4 p. 100 seulement nous avons dû avoir recours à l'ensemencement des organes.

Manifestations anatomiques

Enfin, une grande place doit être faite aux résultats d'autopsie des animaux infectés ; la plupart présentent des lésions importantes de différents organes, nous en donnerons la nomenclature par ordre de fréquence.

En tout premier lieu, la rate paraît être l'organe électif des brucella ; l'augmentation de volume est la règle, augmentation qui peut atteindre vingt, trente fois le volume normal. D'aspect granuleux, elle est très souvent semée de petits abcès nodulaires. L'envahissement de la rate par ces abcès est telle qu'elle peut être réduite à de maigres îlots sains. *On y retrouve le germe dans la majorité des cas.*

Les organes lymphatiques viennent en deuxième li-

gne, les ganglions précruraux, illiaques, rétro-sternaux axillaires, sous-mentonniers, sont généralement gros. Quelques fois, les poumons présentent de nombreux nodules punctiformes, brillants : qui renferment presque toujours les brucella. Les capsules surrénales sont épaisses. Les organes génitaux qui chez les animaux supérieurs, caprins, ovins, bovins, sont le siège d'élection de l'infection, sont aussi chez le cobaye très fréquemment touchés. L'abcès de l'épididyme, du testicule est très fréquent. L'abcès de la prostate et la présence de pus dans les vésicules ne sont pas rares, pendant la période active de la maladie ; par contre dans les états chroniques on relève presque toujours l'atrophie des testicules ; toutes ces lésions donnent des cultures positives. La plèvre, la péricarde peuvent être aussi, atteints, et l'épanchement recueilli dans leur cavité donne des colonies abondantes.

Enfin le pus ou les sérosités des abcès costaux (situés à la suture ostéo-cartilagineuse), des arthrites des différentes articulations, des abcès pottiques recèlent le germe infectant.

Ainsi donc, par la recherche systématique des 4 tests d'infection que nous venons de décrire, il est aisé de prouver l'infection réelle du cobaye. Les critères de l'infection seront donc :

1°) Sero-agglutination permanente positive, au dessus du taux de 1/40

2°) Intra-dermo-réaction constante d'intensité ++ ou au dessus.

3°) Hémocultures positives pendant une longue période.

4°) Lésions typiques des organes renfermant le germe infectant.

Sans doute l'un des tests (allergie) peut être *exceptionnellement* défaillant, chez les animaux cachectiques,

par exemple, qui sont dans un état anergique total, mais alors, la preuve bactériologique est de règle (1).

En contre-partie nous sommes donc autorisés à dire qu'un animal préalablement infecté dont la séro-agglutination est négative, l'intradermo réaction nulle, qui ne donne pas d'hémoculture, et ne présente pas de lésions d'organes, a été protégé contre la maladie. Ce seront là les quatre preuves que nous *exigerons de nos animaux vaccinés*.

1°) Avant de terminer cette brève étude, il nous faut encore insister sur un point essentiel : La chronicité de l'infection brucellique chez le cobaye. Comme le disait déjà en 1922, BURNET (8) « les faits qui donnent une physionomie marquée à l'infection du cobaye sont la chronicité, la constance et la persistance de ce qu'on peut appeler les gîtes microbiens : ganglions, moelle des os, et rate. Le cobaye n'est pas seulement un porteur de microbes ; son infection est bel et bien une maladie, qui mord profondément sur l'organisme, et imprègne les humeurs et les tissus de propriétés nouvelles »

C'est là notre opinion personnelle que l'observation de quelques milliers de cobayes infectés rend des plus légitimes.

Nous avons pu suivre pendant des laps de temps variant de 3 à 26 mois 210 cobayes de diagnostic, présentant dès le deuxième mois d'infection, des séro agglutinations, des intra-dermo positives, et ayant donné (sauf 32) des preuves bactériologiques de leur infection ; tous sauf un, ont conservé jusqu'à leur mort des agglutinations, des intra-dermo réactions maxima ; la plupart présentant des lésions importantes d'organes.

Il est difficile semble-t-il de trouver preuve plus démonstrative de la chronicité de l'affection chez le cobaye.

CHAPITRE II

RECHERCHES PERSONNELLES

La vaccination du cobaye par le vaccin mixte

(Antigène glucido-lipidique et *Brucella Abortus* 112)

A — Technique

Voici tout d'abord la technique que nous employons depuis longtemps, soit pour l'infection soit pour l'étude régulière de la maladie chez le cobaye ; technique qui a été identique pour tous les animaux. Avant l'expérience, ceux-ci ont tous subi un examen sérologique du sang qui doit être rigoureusement négatif. Après la vaccination, tous les 15 jours, on pratique systématiquement une hémoculture, une séro-agglutination, et une intra-dermo réaction à la protéine (0,1 cc.) Le sang est prélevé par ponction cardiaque.

L'infection par *Br. Méritensis* virulent est réalisée par la peau, préalablement scarifiée en stries serrées, sur laquelle on applique une anse large de suspension microbienne provenant d'une culture de 48 heures de H-105 (souche extrêmement virulente de notre collection) et renfermant 40 millions de germes par cc. L'anse apportant avec elle 1/20 cc., c'est donc deux millions de germes environ qui infectent l'animal (près de deux cents fois la dose minima infectante).

Les animaux témoins subissent le même mode d'in-

fection. Après l'infection on continue à ponctionner les cobayes tous les 15 jours; on pratique chaque fois : deux hémocultures (une cultivée en CO_2 , l'autre à l'air libre), un séro diagnostic, et une intra-dermo-réaction.

Enfin, en cas de mort accidentelle ou provoquée, les animaux sont autopsiés minutieusement, les organes « gîtes habituels de brucella » sont prélevés et ensemencés en bouillon.

Les hémocultures et les cultures d'organes en bouillon sont conservées à l'étuve pendant 50 jours, le germe se développant quelques fois avec une extrême lenteur ; les repiquages ont lieu tous les 10 jours.

Les souches isolées sont toutes différenciées selon la méthode d'HUDDESON (16) précaution des plus utiles et qui nous a permis de déceler dans un des groupes, un animal accidentellement infecté avant l'expérience par un germe du type bovis, typique, alors que notre souche vaccinnante est un abortus atypique, et le germe infectant, un mélitensis typique.

B. — Le vaccin

Comme il a été indiqué précédemment, notre méthode d'immunisation repose sur l'association de deux éléments : l'un, chimique, l'autre, bactérien. Nous avons suffisamment insisté sur le premier pour qu'il soit utile de revenir sur ce sujet.

Le second, l'élément bactérien est constitué par l'emploi de la souche vivante B-112. Cette souche est d'origine bovine, isolée aux Antilles ; elle est classée comme un abortus bovis type, par les méthodes bactériostatiques d'HUDDESON et par sa faculté de produire abondamment de l' H_2S , mais elle nous est apparue atypique vis-à-vis de la classification, selon la méthode de MARIA DE SANCTIS (17) car, contrairement à l'abortus bovis vrai, elle pousse fort bien sur le milieu de Pétragnani.

Avirulente pour l'homme, comme l'ont prouvé de multiples inoculations pratiquées par MORALES OTERO (18) sur les Indigènes de Porto Rico, elle ne provoque chez le cobaye aucune maladie vraie. A faible dose, (1 million de germes), elle ne suscite pas chez lui la formation d'anticorps, elle ne déclanche par l'état allergique, et il est difficile d'isoler le germe du sang, même dès les premiers jours.

L'injection de doses plus considérables (50 millions de germes) suscite, comme le ferait un vaccin mort, l'apparition d'agglutinines qui réagissent alors au taux maximum de : 1/160, quelques fois exceptionnellement, 1/320 ; l'intra-dermo, elle aussi, devient positive. Mais ces réactions sont *très passagères, nous insistons sur ce point*. Quant à l'isolement du germe du sang il n'est possible que dans les quinze premiers jours, (une seule fois 3 semaines). Enfin à l'autopsie pratiquée à partir de la 3^e semaine, on ne constate jamais de lésions d'organes et il ne nous a jamais été possible d'obtenir un ensemencement positif.

C. Organisation d'expérience

Notre vaccin étant constitué par l'association de deux éléments, qui doivent agir synergiquement, il est indispensable pour justifier notre méthode, de démontrer que chacun d'eux pris isolément est incapable de créer l'état immunitaire que développe parfaitement leur coopération.

C'est pourquoi nous avons étudié simultanément, plusieurs groupes de cobayes dont chacun d'eux reçoit un traitement différent, de façon à mettre en évidence la valeur de notre préparation vaccinale active.

Le groupe I est constitué par des cobayes qui ont été infectés par Br. Mélitensis H-105. L'étude de ces animaux

permet de fixer le tableau de l'évolution « moyenne » de l'infection brucellique du cobaye.

Le groupe II est constitué par des cobayes traités par le seul antigène glucido-lipidique et infectés ensuite par H-105.

Le groupe III est constitué par des cobayes traités par la seule souche B-112 et infectés ensuite par H-105.

Le groupe IV est enfin constitué par des cobayes qui ont été traités par notre vaccin (Antigène Glucido-lipidique et Br. B. 112)

Il a été subdivisé en deux groupes :

Groupe IV (A) Animaux ayant reçu un mélange d'antigène Glucido lipidique et de Br. B-112

Groupe IV (B) Animaux recevant simultanément mais séparément l'antigène G. L et la souche Br. B-112.

Nous allons étudier successivement les résultats constatés dans ces différents groupes adoptant une méthode d'exposition qui a l'avantage d'être la plus démonstrative tout en étant la plus concise.

Un graphique et un tableau résument l'évolution « moyenne » de tout un groupe et sont accompagnés des quelques observations indispensables.

CHAPITRE III

Les résultats

A — Evolution de l'infection chez les cobayes témoins infectés par le *brucella melitensis*.

Le graphique 2 et le tableau I nous montrent comment a évolué l'infection brucellique de 27 cobayes inoculés avec la souche virulente de Mélitensis H-105 dans les conditions qui seront celles de toutes les expériences suivantes.

Le groupe témoin de l'infection par le *brucella melitensis* est le plus important, car pour chaque lot d'animaux vaccinés il a été créé un groupe de contrôle. Tous ces animaux ont été infectés selon notre technique habituelle.

Le tableau I permet de se rendre compte du comportement personnel de chacun des cobayes ; par un grand souci de vérité nous avons tenu à montrer toutes les variations individuelles que nous avons constatées.

On notera qu'à l'autopsie tous les animaux présentaient des lésions typiques de l'infection, qu'il a été possible d'isoler le germe à partir des organes, pour 21 d'entre eux (5 prélèvements contaminés n'entrant pas en ligne de compte).

Le graphique indique suffisamment, sans qu'il soit besoin d'insister, la hauteur et la constance d'agglutination, l'intensité de l'intra-dermo-réaction, et la persistance de la bacillémie brucellique. Ils nous ont tous don-

TAE
Groupe cor
Cobayes infectés

N° des Cobayes	Nombre d'hémocul- tures positives après infection	Taux de la dernière aggluti- nation	Intensité de l'I. D. réaction terminale	LÉSIONS DES ORGANES					
				Rate		Foie		Ganglions	
				Volume	Lésions	Volume	Lésions	Iliacé	Précervical
1 81 bis	2	1: 160		V4	—	V3	+	V	V
1 81 ter	2	1: 160		V6	—	V2	—	V4	V4
1 97 bis	3	1: 320	++++	V2	+	V	+	V	V
2 71 bis	1	1:2560	++	V3	+	—	—	V3	V3
271 ter	4	1:2560	++++	V2	+	—	+	V	V
297 bis	3	1:2560	++	V9	+	—	+	V4	V4
297 ter	3	1:2560	++	V6	—	—	+	V	V
353	2	1: 20	+	—	—	—	—	V2	V2
354	5	1:1280	—	V4	+	V	+	—	—
355	5	1:2560	+	V2	+	—	+	V2	—
356	3	1: 640	++	V3	+	—	—	V2	V2
357	2	1: 80	++	Atr.	+	—	—	V3	V3
358	1	1: 10	—	V2	+	—	—	V3	V3
359	5	1:5120	++++	V3	—	—	—	V	V
360	6	1: 640	++++	V3	—	—	+	V	V
361	1	1: 160	++	—	—	—	—	—	—
362	5	1:1280	—	V5	+	V	—	V	V
383	1	1: 640	++++	V4	—	—	+	V	V
384	1	1: 10	—	—	—	—	—	—	—
385	1	1: 320	+++	V2	+	V3	++	V+	V
386	0	1: 80	++	V2	+	—	—	V2	V2
387	1	1: 40	—	V2	—	—	—	V2	V2
388	1	1: 640	+	V8	à latém	—	—	V2	—
389	3	1: 320	++++	V3	+	—	+	V	V
390	1	1: 10	+	V2	+	V	+	V+	V+
391	3	1: 640	+++	V8	+	—	+	V	V+
392	1	0	—	V2	+	—	+	V+	V+

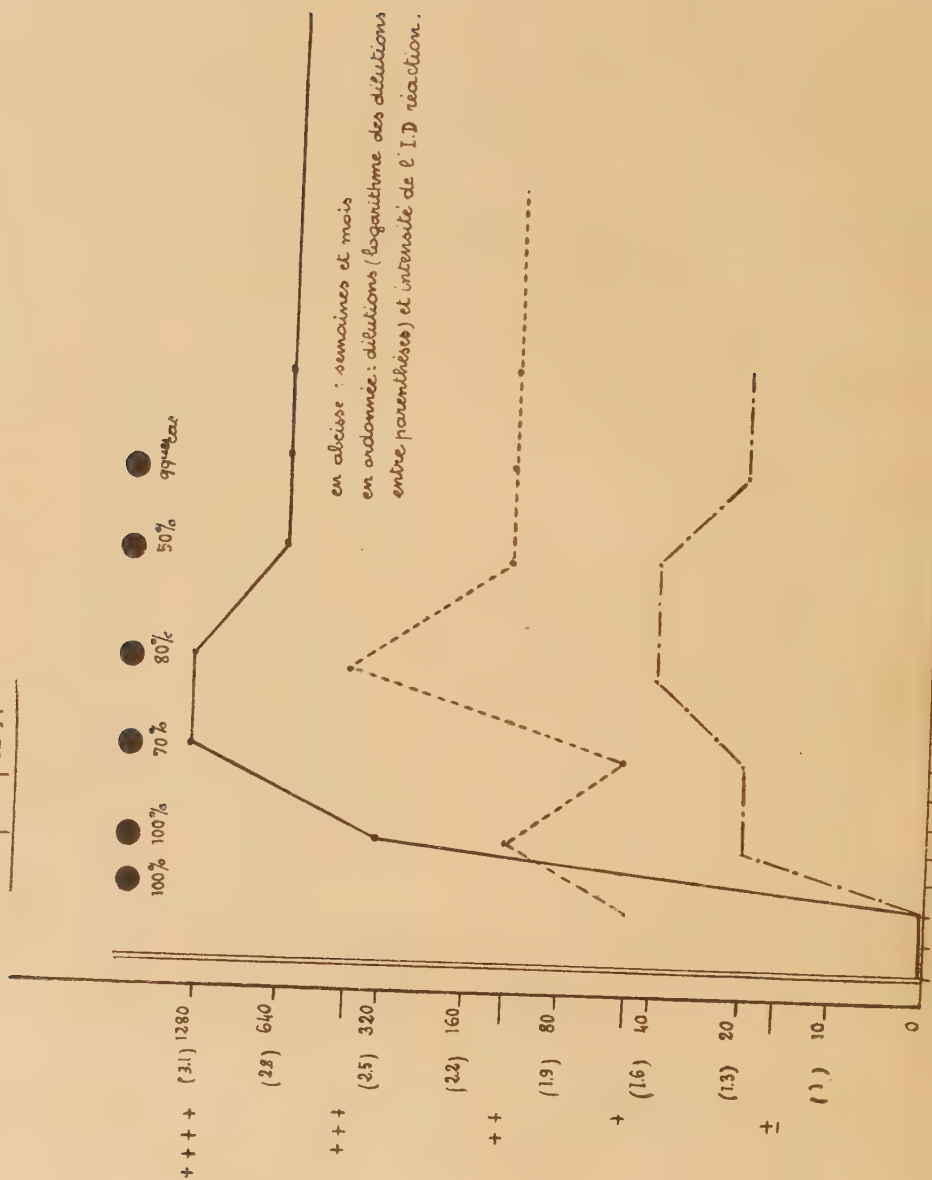
- La lettre V indique une augmentation de volume de l'organe.
- Les exposants montrent l'augmentation de volume comparée à un organe normal.
- La présence de lésion est marquée à l'aide du signe +

inique 2)
itensis H- 105

D'AUTOPSIE								Observations et causes de la mort
CULTURE DES ORGANES								
Rate		Foie		Ganglions		Autres organes		
Pétri	B. F.	Pétri	B. F.	Pétri	B. F.	Pétri	B. F.	
+	+	+	+	+	+			Mort de choc
+	+	+	+	+	+			Mort de choc
+	+	+	+	+	+			Mort de choc
+	+	+	+	+	+	+	+	Mort de choc
+	+	+	+	+	+	+	+	Mort ?
+	+	+	+	+	+			Mort de choc
+	+	+	+	+	+			Mort de choc
—	C	—	C	—	C			Mort ?
+	+	+	+					Cachexie
+	+	—	+	—	+			Cachexie
+	+	—	+	—	+			Cachexie
—	—	—	—	—	—			Sacrifié
+	+	+	+	+	+			Mort de choc
+	+	—	—	+	—	+	+	Sacrifié
—	—	—	—	—	—	—	+	Sacrifié
+	+	—	+	—	—	—		Mort ?
+	+	+	+	+	+			Mort de choc
+	+	—	—	—	—	—		Ponction cardiaque
+	+	+	+	—	—			Mort ?
—	C	—	C	—	—			Sacrifié
—	C	—	C	—	—			Sacrifié
—	C	—	C	—	—			Sacrifié
+	+	+	+	+	+	+	+	Eclatem. de l'artère
+	—	+	—	+				Ponction cardiaque
+		+		+				Mort ?
+		+		+		+		Sacrifié
+		+		—				Mort ?

Abréviations employées :
 abcès
 = Epididyme
 contamination
 Atr = atrophie
 Ut = utérus
 Test = testicule
 Co = cartilages costaux

Graphique N° 2



GRAPHIQUE N° 2

Ce graphique concerne tous les cobayes témoins de cette expérience — (tableau n° 1).
Ces cobayes (27) ont été inoculés en même temps et de la même façon que les animaux des groupes vaccinés.

Tous ces animaux (sauf 1 cobaye n° 386) ont donné une ou plusieurs hémocultures positives. 20 d'entre eux ont fourni des cultures d'organes.

Tous ont présenté des lésions anatomiques nettes.

LÉGENDE

—————	séro agglutination moyenne
- - - - -	séro agglutination min. (1 cobaye
	moyennedesintradermo-réactions
●	hémocultures positives
○	hémocultures négatives
Le double trait vertical indique le jour de l'infection.	

né (sauf 1 : cobaye n° 386) à partir de la 2^e semaine une ou plusieurs hémocultures positives. Nous avons obtenu 99 % d'hémocultures positives pendant le premier mois ; puis le 2^e et le 3^e mois, nous avons obtenu respectivement 70 et 80 p. 100 des résultats positifs, 50 p. 100 seulement au 4^e mois, enfin quelques rares succès sont enregistrés à partir du 5^e mois.

Cependant à l'autopsie *tous* les animaux présentaient des lésions typiques de l'infection et pour 21 d'entre eux il nous a été possible d'isoler le germe à partir des organes.

B. — Essai de vaccination par l'Antigène Glucido lipidique.

GROUPE II

Animaux traités par le seul-antigène glucido lipidique et infectés ensuite par le *Brucella Mélitensis* H-105

Le graphique 3 nous montre tout d'abord l'action de l'antigène glucido-lipidique chez le cobaye en dehors de toute infection ultérieure (courbe moyenne d'après 28 cobayes).

Ces animaux ont reçu 3 injections d'antigène à huit jours d'intervalle ; dès la 2^e injection les courbes d'agglutination, et de l'intensité de l'intra-dermo réaction montent de pair ; on enregistre une agglutination massive à 1/160, taux qui faiblit par la suite pour se négativer dès le 4^e mois ; la réaction allergique se comporte de même.

L'antigène se conduit donc comme un antigène complet créant des anticorps et développant l'allergie.

La préparation de ces animaux par un tel antigène est-elle capable de les mettre à l'abri de l'infection expérimentale ultérieure ?

Le graphique 4 et le tableau II répondent à cette question.

Nous avons pratiqué deux séries d'expériences :

1^e série: 10 cobayes ont reçu 6 injections intra-dermiques, une par semaine, d'antigène G. L. au total 1cc.

2^e série: 8 cobayes ont reçu 1cc. d'antigène G. L. en 3 injections seulement (une par semaine).

Sur le graphique 4 on a montré l'évolution des réactions de chacun de ces groupes. Pour la série 1 on constate que les taux d'agglutination et l'intra-dermo réaction sont moyens, et avaient tendance à baisser lorsque les animaux ont été sacrifiés.

Seuls, 3 d'entre eux ont fourni une hémoculture positive; à l'autopsie, *un seul cobaye* présentait une rate granuleuse augmentée de volume, qui fournissait la culture de *Brucella Melitensis*.

On juge par là de l'état de résistance considérable qu'a créé la vaccination par l'antigène G. L.

Pour la deuxième série les résultats ont été moins brillants; on verra sur le graphique que les taux d'agglutination sont les plus élevés et que les réactions allergiques présentent une intensité maxima; sans doute, en fin d'expérience, les courbes de ces deux réactions avaient tendance à baisser. Mais tous ces animaux ont fourni une ou plusieurs hémocultures positives et à l'autopsie ils présentaient tous de nombreuses lésions d'organes; dont isolait le germe infectant pour 3 d'entre eux.

Le résultat de ces deux séries est assez contradictoire; contradiction que l'on peut imputer à:

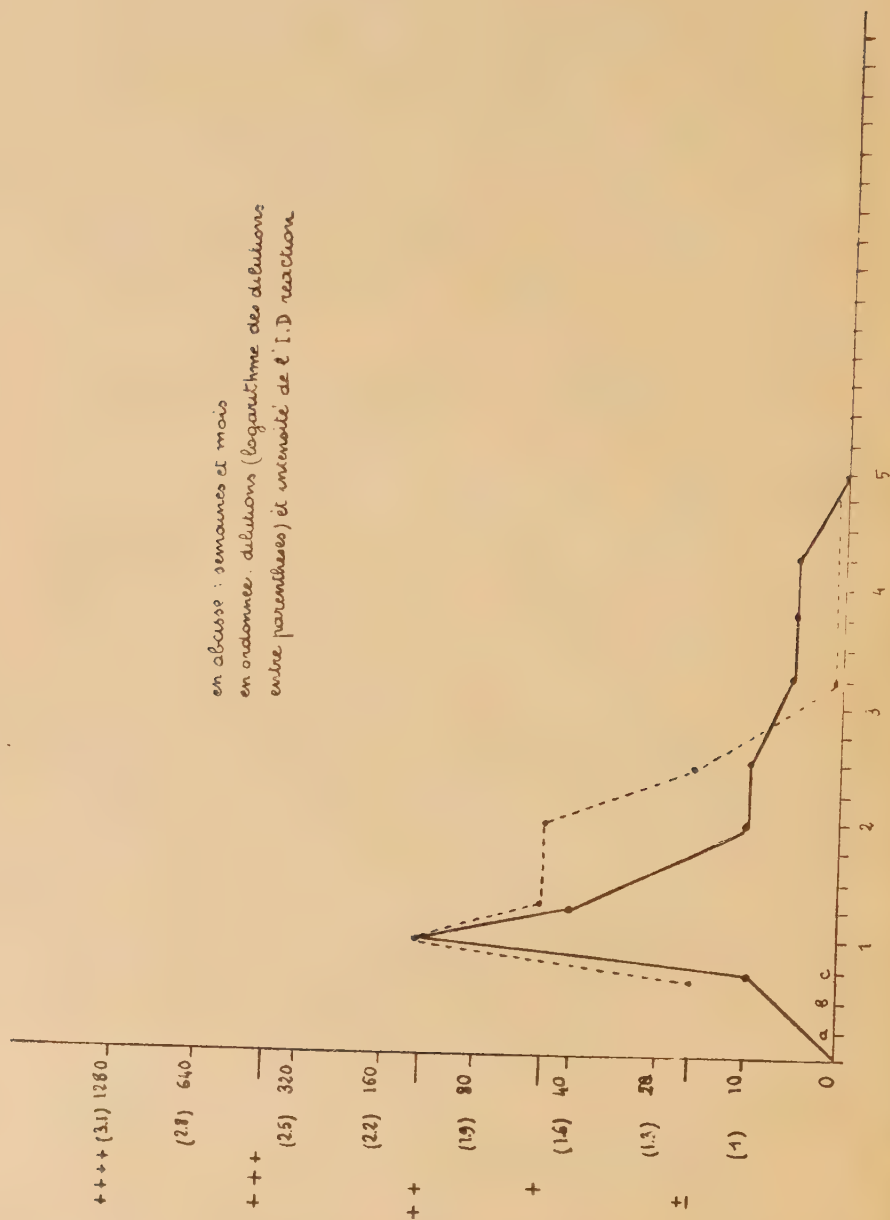
1^o) La différence dans le mode de vaccination.

2^o) L'écart des dates d'infection après vaccination.

3^o) La plus ou moins grande valeur de l'antigène, employé, antigène qui n'était pas le même pour les 2 séries.

Quoiqu'il en soit nous retiendrons de ce qui précède, que l'antigène G. L. semble conférer à l'ani-

Graphique N°3



GRAPHIQUE N° 3

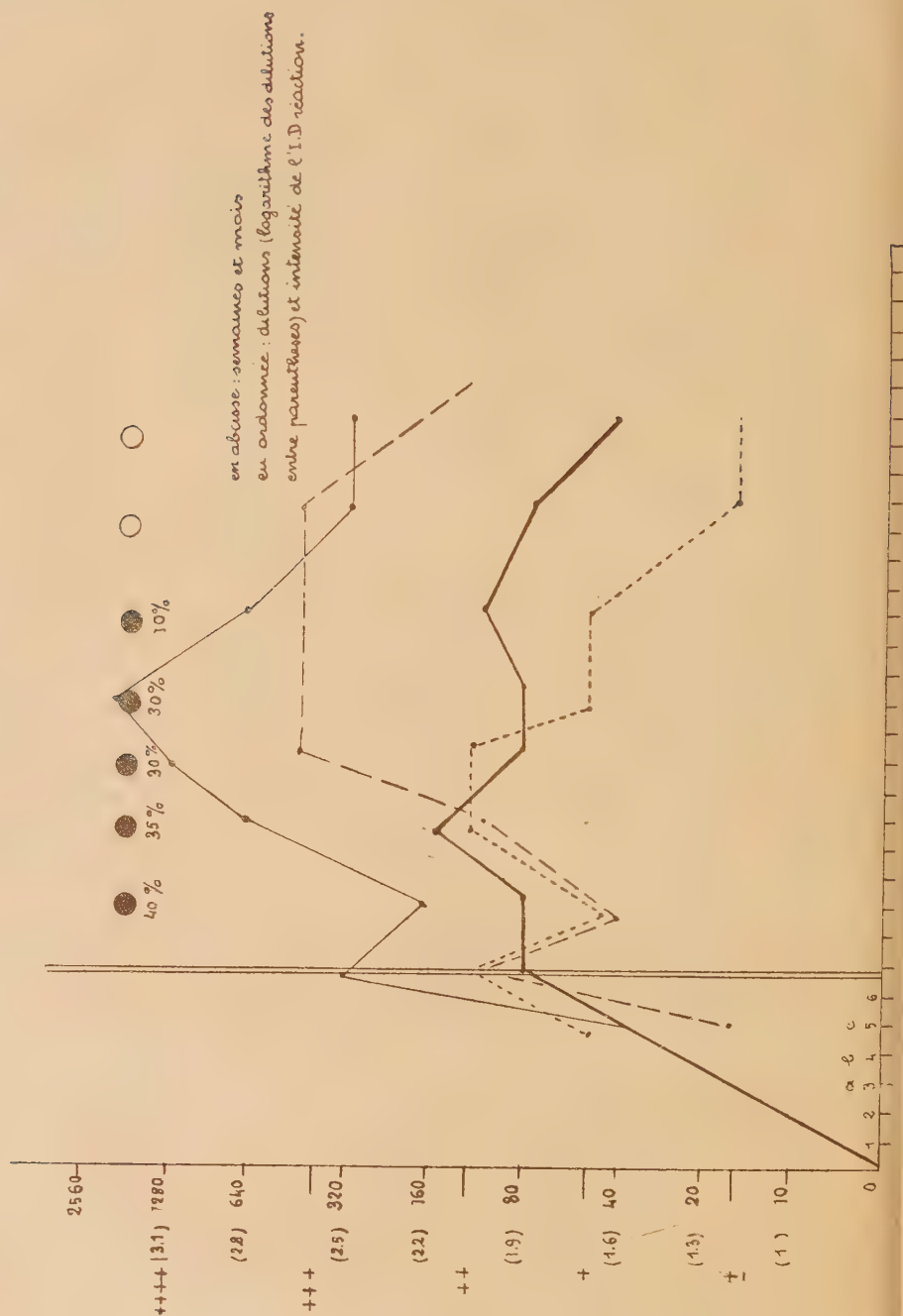
(d'après 28 cobayes)

Ces animaux (groupe 1) ont reçu par voie intradermique en 3 injections : 1 cc. en tout d'Antigène G. L. ; une injection par semaine.

LÉGENDE

	séro agglutination
	intra dermo réaction
a, b, c,	injection d'Antigène G. L.

Graphique N°4



(d'après 18 cobayes)

Concernant deux groupes de cobayes vaccinés par l'antigène glucido-lipidique : — 1^{ère} série 6 injections — une par semaine — intra-dermiques, au total 1 cc. — Les 10 animaux de ce groupe ont été infectés 8 jours après la dernière injection par une anse de suspension de Br. Mélitensis H-105 (1 million de germes environ) après scarification de la peau. — Ce groupe considéré comme le plus favorable à 80 % de vaccinés (voir tableau II).

— 2^e série même quantité d'Antigène en 3 injections seulement. — Infectés (8 animaux seulement) 15 jours après la dernière injection.

Tous les cobayes de ce groupe présentaient des lésions d'organes et ont donné diverses cultures et hémocultures. (tableau II).

LÉGENDE

	séro-agglutination 1 ^{ère} série
	intra-dermo réaction 2 ^{me} série
	séro-agglutination 2 ^{me} série
	intra-dermo réaction 1 ^{ère} série
	hémoculture positive
	hémoculture négative
1, 2, 3, 4, 5, 6	injections vaccinales série 1
a, b, c	injections vaccinales série 2.

Le double trait vertical indique l'infection.

TABLEAU N° II

groupe II et séries 1 et 2 (Graphique N° 2)

Cobayes vaccinés par des injections d'Antigène G. L., voie intra-dermique. Infectés par Br. Melitensis H. 105

RÉSULTATS D'AUTOPSIE																
N° des Cobayes	Nombre d'hémocul- tures positives après infection	Taux de la dernière agglutina- tion	Intensité de l'I. D. terminale	LÉSIONS DES ORGANES						CULTURES DES ORGANES						Observations et Causes de la mort
				Rate		Foie		Ganglions		Autres organes	Rate	Foie		Ganglions	Aut. orgs.	
				Volume	Lésions	Volume	Lésions	Iliaque	Précervical			Pétri	B. F.			
168	0	1: 320	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
169	0	1: 160	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
170	1	1: 80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
171	1	1: 160	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
172	0	1: 80	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
182	0	1: 10	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
189	0	1: 40	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
190	0	1: 80	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
191	0	1: 80	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacré
192	1	1: 80	++	V2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ponction cardia.
268	3	1: 160	++	—	—	—	—	V3	+	A. Co	—	—	—	—	—	sacré
269	4	1: 20	++	V	+	—	—	V3	+	—	—	—	—	—	—	sacré
270	3	1: 320	++	V2	—	—	+	V3	—	—	—	C	—	—	—	sacré
271	3	1: 2560	++	V5	—	—	+	V3	—	A. Tes.	—	C	—	—	—	sacré
294	1	1: 1280	++	V4	—	—	+	V4	—	—	—	+	+	+	+	Mort de choc.
295	5	1: 640	++	V2	—	—	+	V	—	—	—	C	+	+	+	ponction cardia.
296	2	1: 640	++	V8	—	—	+	V	—	A. Co	—	C	+	+	+	sacré
297	4	1: 1280	++	V11	+	—	+	V4	+	Rein	+	+	+	+	+	Mort ?

La lettre V indique une augmentation de volume de l'organe.
 — Les exposants montrent l'augmentation de volume comparée à un organe normal.
 — La présence de lésion est marquée à l'aide du signe +.

Abréviations employés :

A = abcès
 Epi = Epididyme
 C = Contamination
 Atr = atrophie
 Ut = Utérus
 Test = testicule
 Co = Cartilages costaux.

mal vacciné, un pouvoir de résistance relative à l'infection.

**C — Essai de vaccination par la souche
Brucella Abortus B-112**

GROUPE III

**1° Animaux traités par la souche B-112 et infectés
ensuite par H-105**

Le graphique 5 nous montre d'abord comment se comportent les cobayes inoculés avec la souche abortus bovis avirulente B-112 (courbe moyenne d'après 12 cobayes) en dehors de toute infection ultérieure.

Ces animaux ont reçu une seule injection de 1 cc. de suspension microbienne très épaisse, soit quarante milliards de germes.

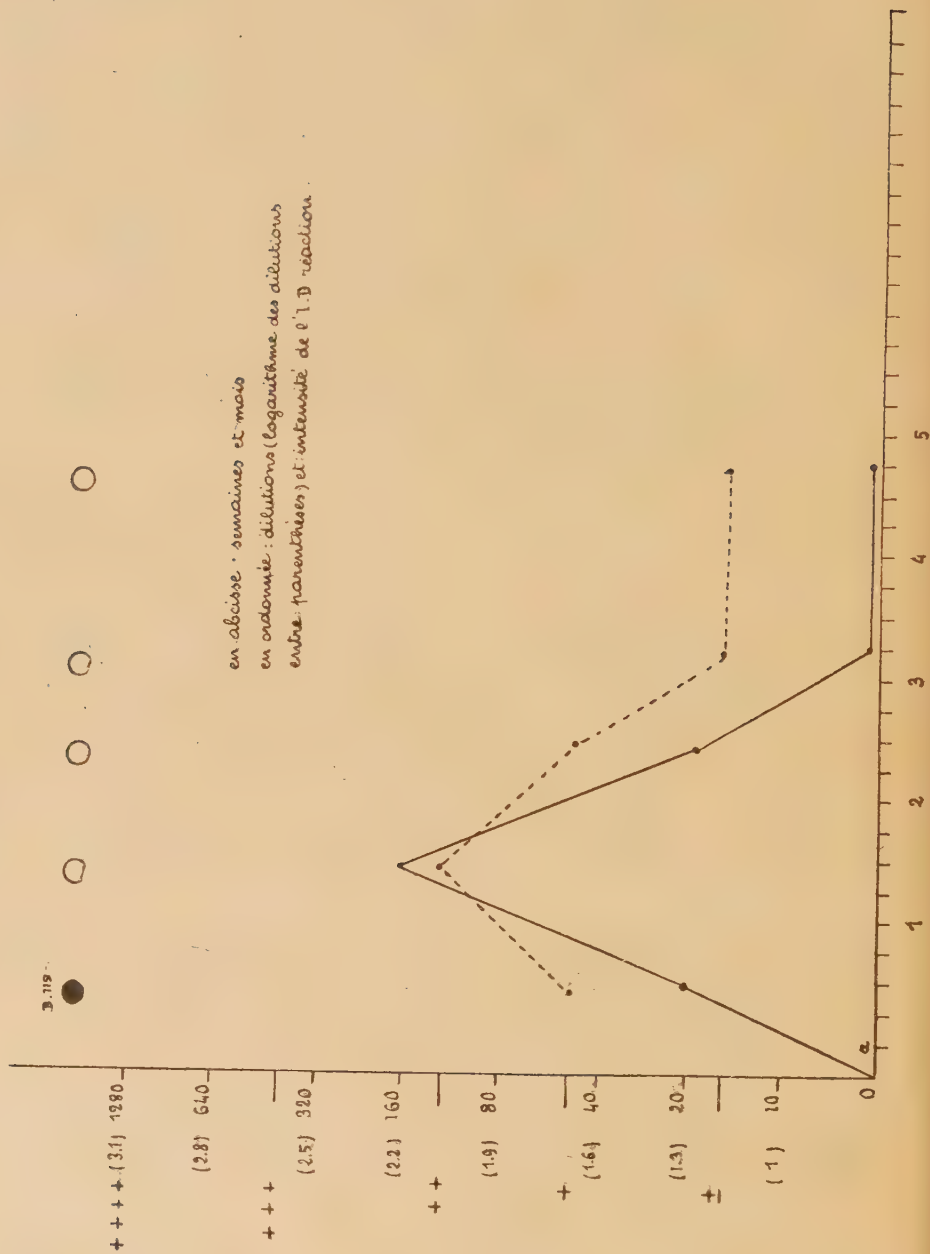
Le taux maximum atteint par l'agglutination ne dépasse pas 1/160, puis très rapidement, dès le 2^e mois il s'abaisse pour se négativer le 3^e mois. La courbe de l'intra-dermo réaction suit la courbe d'agglutination. Il est de règle d'obtenir une hémoculture dans les 15 jours qui suivent l'inoculation.

A l'autopsie on notera que nous n'avons jamais constaté de lésions microscopiques, ni obtenu de cultures d'organes.

Le graphique 6 et le tableau III montrent à leur tour l'évolution de la maladie chez 11 animaux traités par la souche avirulente Br. Abortus B-112 et infectés ultérieurement par Brucella Méritensis 45 jours après le traitement vaccinal.

On voit que sous l'influence de l'inoculation du germe virulent le taux d'agglutination rebondit brusquement jusqu'au titre de 1/1280 puis redescend au taux 1/320, taux constaté le jour de l'autopsie.

Graphique N° 5



GRAPHIQUE N° 5

(d'après 12 cobayes)

Courbe concernant un groupe de cobayes qui ont reçu 1 cc. d'une suspension de germes vivants, souche aortus bovis B-112, avirulente (environ 40 milliards de germes) : 0,5 cc sous-cutané. — 0,5 cc. voie intradermique.

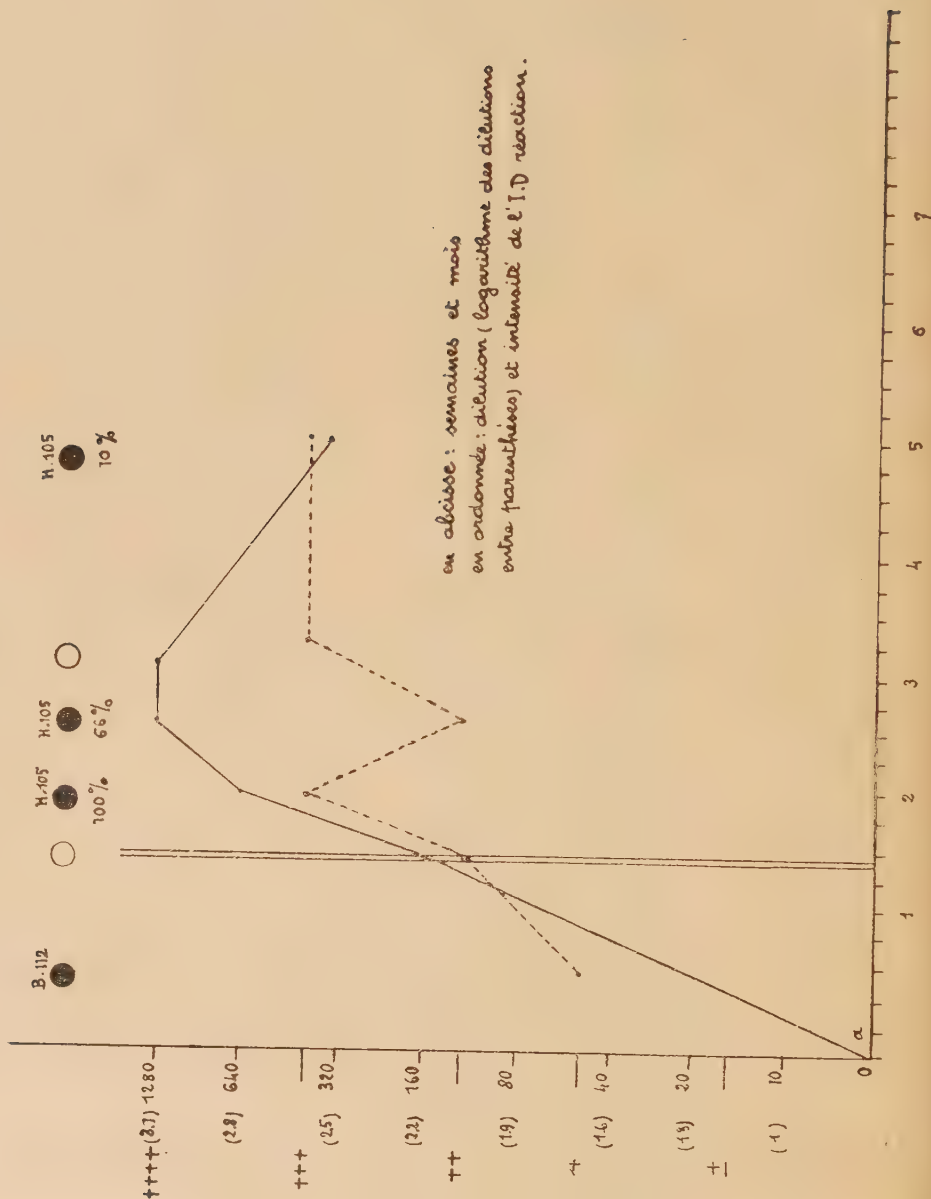
Il est de règle d'obtenir une hémoculture positive pendant les quinze premiers jours ; exceptionnellement, nous avons obtenu une hémoculture après 3 semaines.

A l'autopsie, nous n'avons jamais constaté de lésion macroscopique, ni obtenue de cultures d'organes.

LÉGENDE

	sero-agglutination
	intradermo-réaction
	hémoculture positive
	hémoculture négative
	injection de br. abortus B-112

Graphique N° 6



GRAPHIQUE N° 6

Ces cobayes (groupe 3) ayant reçu 1 cc. de suspension épaisse (40 milliards environ) de la souche avirulente abortus bovis B-112 et infectés 6 semaines après par mélitensis H-105 (1 anse = 1 million de germes, sur la peau scarifiée), ont tous donné, soit par hémocultures, soit par cultures d'organes, le germe infectant (tableau n° III).

LÉGENDE

	séro-agglutination moyenne
	intra-dermo réaction
	hémoculture positive.
	hémoculture négative
	injection vaccinante

Le double trait vertical indique l'infection.

TABEAU N° III
Groupe III (Graphique N° 6)
Cobayes vaccinés par Br. Abortus B-112, souche vivante. Infectés 6 semaines après par Br. Melitensis H-105

N° des Cobayes	Nombre d'hémocultures positives après infection	Titre de la dernière agglutination	Intensité de l'I. D. terminale	LÉSIONS DES ORGANES										Autres organes	CULTURE DES ORGANES						Observations et Causes de la mort								
				Rate		Foie		Ganglions		Rate	Foie		Ganglions		Autres organes	Rate		Foie		Ganglions		Autres organes							
				Volume	Lésions	Volume	Lésions	Iliaque	Préaural		Volume	Lésions	Pétri			Bouillon	Volume	Lésions	Pétri	Bouillon			Volume	Lésions	Pétri	Bouillon	Volume	Lésions	Pétri
261	1	1:1280	++	V3	+	—	—	V3	V	—	+	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
333				—	—	—	—	V3	V3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié Cachexie 15 jours après infection		
334	1	1:2560	+++	—	—	—	—	V3	V3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
335	0	1: 20	+++	V2	—	—	—	V3	V3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
336	1	1: 160	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
337	0	1: 80	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
338	1	1:2560	++	V3	+	—	—	V2	V3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
339	1	1: 640	—	—	+	—	—	V2	V2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
340	0	1: 80	+	V2	+	—	—	V2	V2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
341				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
342	1	1:1280	+++	—	—	—	—	V3	V3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sacrifié ponction cardiaque avant infection			
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Sacrifié ponction cardiaque avant infection		
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			Sacrifié ponction cardiaque avant infection	
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				Sacrifié ponction cardiaque avant infection
				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				

— La lettre V indique une augmentation de volume de l'organe.
— Les exposants montrent l'augmentation de volume comparée à un organe normal.
— La présence de lésion est marquée à l'aide du signe +.

Abréviations employées :
A = abcès
Epi = Epididyme
C = contamination
Atr = atrophie
Ut = utérus
Test = testicule
Co = cartilages costaux

La courbe des réactions allergiques suit parallèlement les variations de la courbe d'agglutination :

6 animaux donnent une hémoculture positive de mélitensis.

A l'autopsie on constate chez tous les animaux des lésions d'organes dont on isole le germe pour 5 d'entre eux. La souche avirulente B-112 quoique antigénique ne protège pas le cobaye contre l'infection d'un germe brucellique virulent.

D — Essai de vaccination par le vaccin mixte

GROUPE IV

**Animaux traités par notre méthode de vaccination :
antigène glucido-lipidique et Brucella Abortus
Bovis-B 112**

Nous avons divisé ce groupe en 2 sous groupes. A) et B).

Groupe A

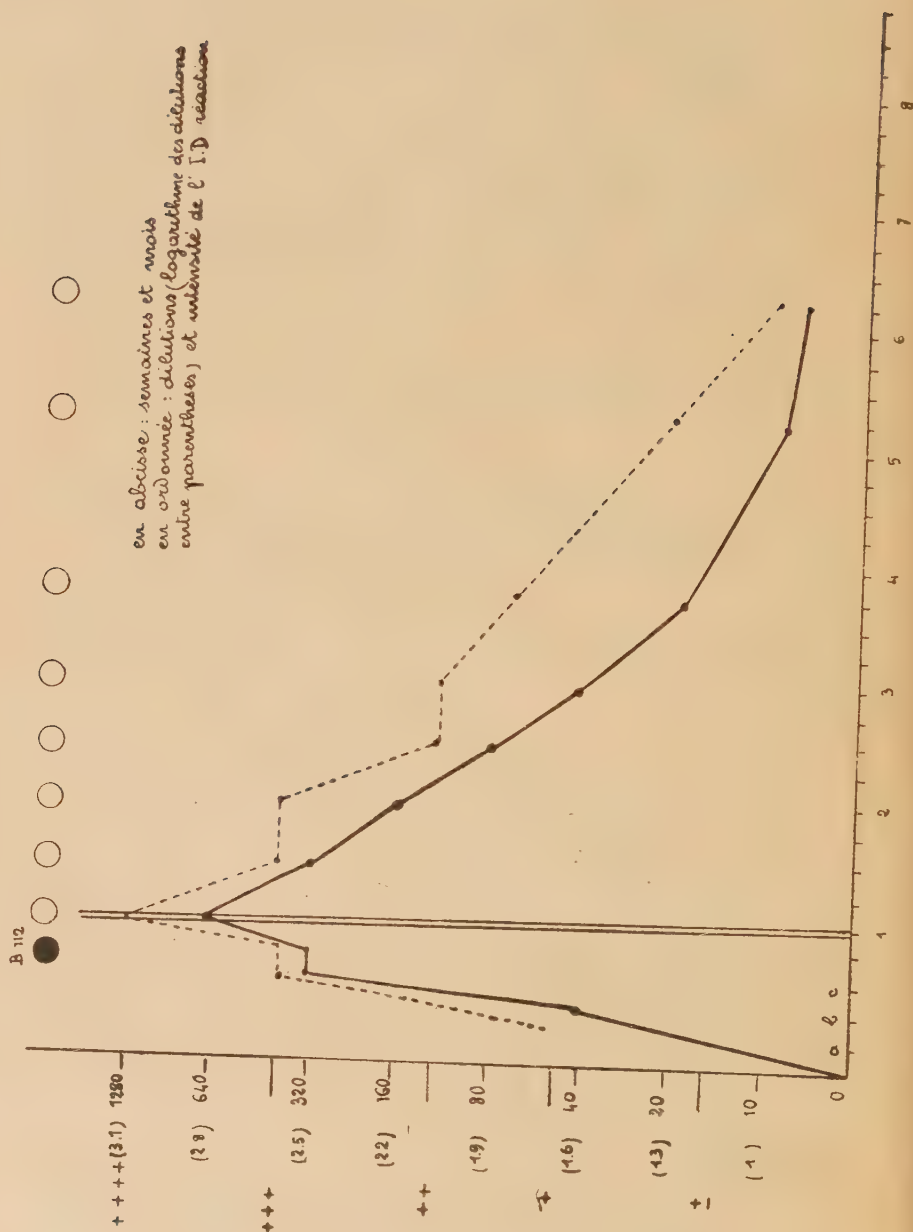
Animaux ayant reçu une association d'antigène glucido-lipidique et la suspension vivante de Br. B-112.

Le graphique 7 et le tableau IV montrent l'action de cette préparation chez le cobaye avant toute infection par le Brucella Mélitensis et l'évolution de la maladie chez ces animaux après l'infection par cette souche virulente (18 cobayes).

Les cobayes de ce groupe sont vaccinés 3 fois à 8 jours d'intervalle par un mélange de suspension microbienne de la souche B-112 et d'antigène glucido-lipidique : au total 150 milliards de germes et 1cc. d'antigène.

Un mois après, les animaux sont infectés par notre technique habituelle. L'association des deux éléments

Graphique N° 7



Ce groupe (groupe IV A) comporte 8 cobayes vaccinés par un mélange de la souche vivante, avirulente, B-112 et de l'antigène G. L. de telle sorte qu'on injectait 50 milliards de germes environ ; 8 jours après, une deuxième injection du même mélange ; 8 jours après, injection de 0,6 cc. d'antigène pur. (On a injecté en tout 1 cc. d'antigène).

Un mois après la première injection, on a infecté ces animaux avec une anse de suspension en eau salée de Br. Mélitensis H-105, après scarification de la peau (voir tableau n° IV).

RÉSULTATS :

6/7 vaccinés

1/7 légèrement infecté : 1 hémoculture obtenue 15 jours après l'infection.

A l'autopsie aucun animal vacciné ne présente de lésions d'organes.

Les cultures d'organes sont toutes négatives.

LÉGENDE

_____ séro-agglutination moyenne

..... intradermo-réaction

● hémoculture positive

○ hémoculture négative

a, b, c injections vaccinales

Le double trait vertical indique l'infection.

TABEAU N° IV
Groupe IV A (Graphique N° 7)
 Cobayes vaccinés avec la souche B-112 vivante, mélangée avec l'Antigène Glucido-lipidique (G. L.)
 et infectés 1 mois après la première vaccination avec H-105 par scarification.

N° des cobayes	Nombre d'hémocul- tures positives après infection	Titre de la séro-agglu- tination terminale	Intensité de l'I. D. terminale	RESULTATS D'AUTOPSIE										Observations et Causes de la mort	
				LÉSIONS DES ORGANES					CULTURES DES ORGANES						
				Rate	Foie	Ganglions	Autres organes	Rate	Foie	Ganglions	autres organes				
				Volume	Volume	Volume	Précurseur		Pétri	B. F.	Pétri	B. F.	Pétri	B. F.	
276	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacréfié
277	0	+ 1/640	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacréfié
278	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacréfié
279	0	+ 1/40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacréfié
309	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacréfié
310	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	souche obtenue 15 jours après l'infection
311	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	mort avant l'infect.
312	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	sacréfié

— La lettre V indique une augmentation de volume de l'organe.

— Les exposants montrent l'augmentation de volume comparée à un organe normal.

— La présence de lésion est marquée à l'aide du signe +.

Abréviations employées :

A = abcès

Atr = atrophie

Test = testicule

Epi = Epididyme

Ut = utérus

Co = cartilages costaux

vaccinants augmente considérablement le pouvoir antigénique que confère isolément chacun d'eux. Un mois après la première injection vaccinnante, le taux d'agglutination atteint 1/640.

La réaction allergique atteint son maximum.

Après l'infection communiquée à cette époque par la souche virulente, on constate les faits suivants qui sont tout à fait remarquables et auxquels nous ne nous attendions pas : *l'augmentation des réactions humorales, du fait d'un nouvel apport d'antigène, ne se produit pas ; au contraire, une baisse importante et très rapide des courbes d'agglutination et de l'intra-dermo se manifeste aussitôt. 4 mois après l'infection, la séro-agglutination, l'intra-dermo réaction étaient négatives pour tous les cobayes.*

Les hémocultures sont elles aussi toutes négatives chez sept sujets ; à signaler que chez un seul on obtient une hémoculture quinze jours après l'infection ce qui ne se reproduira plus dans la suite.

A l'autopsie aucun animal vacciné ne présente de lésions d'organes ; aucune culture positive n'a pu être obtenue.

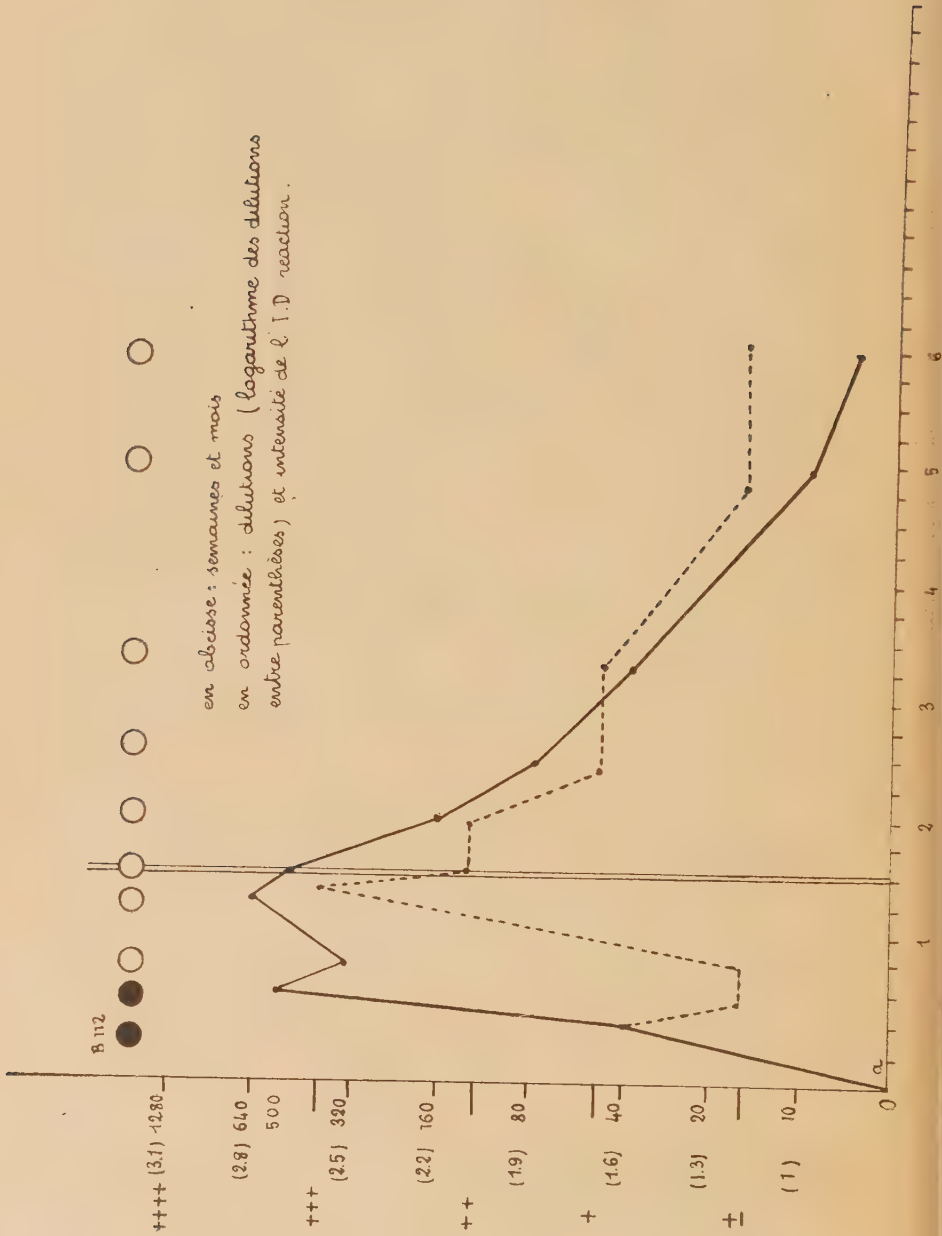
Ainsi donc, nous pouvons considérer que 6 sur 7 de ces animaux sont réellement vaccinés.

Le 7^e qui a donné une souche quinze jours après l'infection, paraît avoir rapidement guéri : à sa mort, les réactions sérologiques et allergiques étaient négatives ; il n'avait aucune lésion et lesensemencements d'organes sont restés négatifs.

Groupe B

Animaux recevant simultanément, mais séparément l'antigène glucido-lipidique et la suspension microbienne de la souche vivante B-112. — Le graphique 8 et le tableau IV montrent l'action de la vaccination ci-dessus

Graphique N° 5



Cegroupe (groupe IV B) comprend 11 cobayes vaccinés par injection simultanée de Br. abortus bovis B-112 et d'Antigène G. L.

Chaque animal a reçu :

1 injection intradermique d'Antigène G. L. : 0,5 cc.

1 injection intradermique de B-112 : 0, 5 cc. (10 milliards).

1 injection sous-cutanée de B-112 : 0, 5 cc.

6 semaines après, infection par Br. Melitensis H-105, suspension en eau salée : 1 anse sur la peau scarifiée (1 million de germes environ).

RÉSULTATS :

6/8 sûrement vaccinés (voir tableau n° 5).

2/8 anatomiquement et bactériologiquement immunisés, seule, la séro-réaction reste très élevée (1 : 2560 — 1 : 640).

LÉGENDE

—————	séro-agglutination
.....	intradermo réaction
●	Hémoculture positive
○	Hémoculture négative
a	injection vaccinante

Le double trait vertical indique l'infection.

TABLEAU IV

Cobayes vaccinés par injections simultanée de br. abortus B. 112 et d'antigène G.L. Infectés par Br. melitensis H. 105 six semaines après.
Groupe IV B (Graphique 8)
Injection simultanée de B-112 et de Boivin

RESULTATS D'AUTOPSIE																
N ^o des Cobayes	Nombre d'hémocultures positives après infections	Titre de l'Aggl. terminale	Intensité de l'I. D. terminale	LÉSIONS DES ORGANES					Autres organes	CULTURE DES ORGANES					Observations et Causes de la mort	
				Volume	Lésions	Volume	Lésions	Foie		Ganglions	Rate	Foie	Ganglions	Autres organes		
323	0	1/640	-	V2	-	-	-	-	-	-	-	Pétri	B. F.	Pétri	B. F.	Mort avant infect. Sacrifié. Ponction cardiaque Sacrifié. Sacrifié. Sacrifié. Mort avant infect. Sacrifié. Mort avant infect. Sacrifié. Mort avant infect. Sacrifié.
324	0	1/160	+	V2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
325	0	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
326	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
327	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
328	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
329	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
330	0	1/2560	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
331	0	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
332	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
253	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

- La lettre V indique une augmentation de volume de l'organe.
- Les exposants montrent l'augmentation de volume comparée à un organe normal.
- La présence de lésion est marquée à l'aide du signe +.

Abréviations employées :
A = abcès
Epi = Epididyme
At = atrophie
Ut = utérus
Test = testicule
Co = cartilages costaux

décrite, et l'évolution de la maladie chez les animaux protégés par ce mode vaccinal.

Ce groupe comprend onze cobayes. Chaque animal a reçu le même jour, 3 injections séparées :

1 injection intra-dermique d'antigène : 0.5 cc.

1 injection intradermique de la souche vivante B-112, 0.5cc. (10 milliards).

1 injection sous-cutanée de la souche vivante B. 112 0.5 cc (10 milliards).

Le graphique n° 8 montre (comme pour le groupe précédent) une ascension rapide des taux de l'agglutination sous l'influence de la vaccination, ainsi qu'une augmentation de l'intensité de l'intra-dermo réaction.

Tout de suite après l'infection, l'agglutination comme dans l'expérience précédente, baisse lentement jusqu'à zéro pendant que les réactions allergiques se négativent.

Aucun de ces animaux n'a donné d'hémoculture positive bien que deux cobayes aient conservé un taux d'agglutination élevé (1/640 et 1/2.560).

A l'autopsie on constate seulement une augmentation de volume de la rate chez deux d'entre eux. *Nous n'avons pu isoler le germe d'aucun organe.*

Ainsi donc nous pouvons considérer que 6 sur 8 des animaux traités sont effectivement vaccinés. Les deux autres, quoique n'ayant pu donner la preuve bactériologique de leur infection, sont considérés par nous comme douteux par suite du taux très élevé de leur agglutination en fin d'expérience.

CONCLUSIONS

De tout ce qui précède nous pouvons conclure que :

L'antigène glucido-lipidique utilisé seul agit comme un antigène complet et procure à l'animal un certain degré d'immunisation, mais qu'il ne le protège pas constamment contre l'infection brucellique.

Il en est de même de la souche vivante B-112 qui, bien qu'antigénique, ne produit pas d'une manière persistante des anticorps et un état allergique suffisant pour s'opposer à l'infection.

Par contre, l'association de l'élément chimique et de l'élément bactérien peut protéger le cobaye contre une infection même massive de *brucella melitensis*.

Nous sommes donc en droit de prétendre avoir vacciné effectivement le cobaye vis-à-vis de cette infection (80 % sûrement guéris).

D'ailleurs, des expériences plus récentes n'ont fait que confirmer plus brillamment peut-être les résultats rapportés plus haut.

Nous avons entrepris depuis quelque temps des essais d'immunisation de bovins et d'ovins contre l'infection à *brucella melitensis*. Nous serons sous peu fixés sur l'efficacité de cette méthode vaccinale appliquée aux animaux appartenant à ces deux espèces.

VU :

pour le Doyen
l'Assesseur délégué
Pr MASSABUAU

VU :

Le Président de la thèse
Pr LISBONNE

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le recteur président du Conseil de l'Université

PARISELLE

BIBLIOGRAPHIE

- 1) LISBONNE (M.), ROMAN (G.), RENOUX (G.). — *C. R. Ac. Sciences*, 1938, t. 206, p. 954.
- 2) EYRE (J. W. H.). — Observations of the virulence of micrococcus mélitensis for the guinea-pigs. Commission de la fièvre méditerranéenne, 1905, Fasc. 2, pp. 67-80.
- 3) ASCOLI (A.). — *Zeit. f. Infektionkrank...* 1915-XVII, p. 156.
- 4) STAFSETH (H. J.). — *Techn. Bull. Mich. Agr. Coll. Exp. st.* 49-1920.
- 5) GWATKINS (R.). — The effect of Killed cultures and filtrates of brucella abortus in the prevention of the infection in guinea-pigs. *Journ. infect. dis.*, 1931, 48, p. 381.
- 6) HAGAN (W. A.). — The value of heat-killed cultures for the prevention of the bacillus abortus inoculation disease of guinea-pigs. *Journ. of exp. medicine*, 1922-36, p. 711.
- 7) ZDRODOWSKI (P.), BRENN (H.) et VOSKRESSENDKI (B.). — Etude sur la fièvre ondulante en Azerbaidjan. Recherches spéciales sur le groupe brucella melitensis abortus. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1930, XLV, p. 768.
- 8) BURNET (Et.). — Recherches sur la fièvre méditerranéenne. *Arch. I. P. Afrique du Nord*, 1922, 2, Fasc. 2, p. 165.
- 9) GWATKINS (R.). — The prevention of brucella abortus infection in guinea-pigs. The effect of convalescent and of hyperimmun serum. *Journ. infect. dis.*, 1932, 50, p. 111.
- 10) Mc EWEN (A. D.) et ROBERTS (R. S.). — Bovine contagious abortion, the use of guinea-pigs in immunisation studies. *Journ. of comparative pathology and therapeutics*, 1936, XLIX, pp. 97. 117.

- 11) LISBONNE (M.) et MONNIER (P.). — Quelques propriétés de l'antigène complet (BOIVIN) de *Brucella Melitensis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 123, p. 1.114.
 - 12) BOIVIN et MESROBEANU. — *Revue d'immunologie*, 1935, I., p. 552.
 - 13) DURHAM (H.). — Some observations on the micrococcus melitensis of Bruce. *Journ. of Path. and Bactér.*, 1908, V, pp. 377 388.
 - 14) HUDDLESON (I. F.) et PENNELL (R. B.). — Chemical constitution and biological properties of the endo-antigen of the brucella groupe of micro-organisms. *Techn. bull. Mich. Agr. coll. exp. st.* 156, 1937.
 - 15) HAGAN (W. A.). — Studies on the disease of guinea-pigs due to bacillus abortus. *Journ. of exp. medicine*, 1922, 36, p. 697.
 - 16) TAYLOR (R.M.), LISBONNE (M.) et ROMAN (G.). — Recherches sur l'identification des brucella isolés en France, par l'action bactériostatique des matières colorantes et la production d'hydrogène sulfuré (HUDDLESON). *Ann. Institut Pasteur*, 1932, XLIX, p. 284.
 - 17) LISBONNE (M.) et ROMAN (G.). — Recherches sur la différenciation des brucella par le milieu de PETRAGNANI (méthode de Maria de SANTIS). *Rev. de microb.* 1936-n° 2.
 - 18) MORALES OTERO. (1). — Exp. infection of brucella abortus in man. Preliminary report. *Journ. trop. med. and. Hyg.*, 1930, I.
 - 19) MORALES OTERO (2). — Further attempts at experimental infection of man with a bovine strain of brucella abortus. *Journ. of infect. dis.*, 1933, Vol. 52.
-

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je reste fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	9
INTRODUCTION.....	11

PREMIÈRE PARTIE

CHAP. I — Les essais antérieurs de vaccination du cobaye.....	25
CHAP. II — Expérience initiale de vaccination par vaccin mixte.....	19

DEUXIÈME-PARTIE

CHAP. I — L'infection brucellique chez le cobaye.....	27
CHAP. II — Recherches personnelles.....	35
a) Technique.....	35
b) Le vaccin.....	36
c) Organisation d'expérience.....	37
CHAP. III — Les résultats.....	41
a) Evolution de l'infection chez les cobayes témoins infectés par le Brucella Melitensis.....	43
b) Essai de vaccination par l'antigène glucido lipidique.....	44
c) Essai de vaccination par la souche Brucella Abortus B-112.....	51
d) Essai de vaccination par le vaccin mixte.....	57
CONCLUSIONS.....	66
